

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA MEDICINA



**UTILIDAD DE MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS (p63/CK34bE12
(DUAL) y ERG) PARA EL DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE TUMORES
BENIGNOS Y MALIGNOS EN PRÓSTATA, UTILIZANDO MUESTRAS
HISTOPATOLÓGICAS DE PACIENTES DEL HOSPITAL ENRIQUE
GARCÉS, QUITO, DE ENERO 2012 A AGOSTO 2014**

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
CIRUJANO

CHRISTIAN ANDRÉS BENAVIDES VÁSCONEZ

Director de Tesis: Dra. María Augusta Albán

Tutor Metodológico: M.Sc. Ana María Troya Zuleta

QUITO, 2015

La presente investigación dedico a mi amado hijo
Panchito y a mi esposa Luz del Carmen Benavides
Tacán, por su amor incondicional, confianza,
paciencia y sinceridad incomparable por quienes
sigo creciendo y dando pasos de gigante día tras día.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por su bendición, por permitir realizarme como ser humano, por darme la capacidad de ser mejor cada día y por ayudarme a alcanzar las metas que me he propuesto en mi vida.

Agradezco a mis padres por apoyarme siempre y por su ejemplo de lucha y perseverancia.

Agradezco a mis directores María Augusta Albán y M.Sc. Ana María Troya, por sus enseñanzas y valioso tiempo que dedicaron al desarrollo de la presente investigación y formación.

Agradezco al Dr. Severino Rey Nodar, quien a más de ser el Líder del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Enrique Garcés es un gran amigo y fue un soporte vital en la realización de esta investigación.

Al personal docente y administrativo de la Pontificia Universidad Católica por su entrega y trabajo constante que permite a cada generación estudiantil culminar su carrera y formarse como profesionales útiles a la sociedad.

¡Muchas gracias!

TABLA DE CONTENIDOS

1. CAPÍTULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
2. CAPÍTULO II	6
2.1. GENERALIDADES DE LA PRÓSTATA	6
2.1.1. Histología	9
2.2. PATOLOGÍAS DE PRÓSTATA	12
2.2.1. Hiperplasia prostática benigna	12
2.2.2. Patologías que simulan cáncer de próstata	17
2.2.3. Cáncer de próstata	18
2.2.3.1. Histopatología	22
2.2.3.2. Lesiones pre-malignas	26
2.2.3.3. Escala de Gleason	27
2.3. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	28
2.3.1. Técnica de Hematoxilina - Eosina	28
2.3.2. Inmunohistoquímica	30
2.3.3. Marcadores tumorales	33
2.3.3.1. p63	34
2.3.3.2. CK34bE12	35
2.3.3.3. Marcador Dual p63/CK34bE12	36
2.3.3.4. ERG	38
2.4. CALIDAD DIAGNÓSTICA	42
2.5. JUSTIFICACIÓN	45
2.6. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	46
2.7. OBJETIVOS	46
2.7.1. Objetivo general	46
2.7.2. Objetivos específicos	47
2.8. HIPÓTESIS	47
3. CAPÍTULO III - METODOLOGÍA	48
3.1. TIPO DE PROYECTO	48
3.2. TIPO DE ESTUDIO REALIZADO	48

3.3.	PERIODO Y LUGAR DONDE SE LLEVÓ A CABO LA INVESTIGACIÓN	48
3.4.	UNIVERSO Y MUESTRA	48
3.5.	MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	51
3.6.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	52
3.7.	NOMENCLATURA	53
3.8.	MÉTODO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
3.9.	ASPECTOS BIOÉTICOS	54
3.10.	ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	54
4.	CAPÍTULO IV - RESULTADOS	56
5.	CAPÍTULO V - DISCUSIÓN	64
6.	CAPÍTULO VI - CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
6.1.	CONCLUSIONES	67
6.2.	RECOMENDACIONES	69
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
8.	ANEXOS	81

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac: anticuerpo

ADN: ácido desoxirribonucleico

Ag: antígeno

CK34bE12: citoqueratina de alto peso molecular

CP: cáncer de próstata

DAB: diaminobencidina

DHT: dehidrotestosterona

ERG: oncogen homólogo del virus E26

ETS: transformación específica eritroblástica

FDA: Food and drug administration

HEG: Hospital Enrique Garcés.

HMCWK: proteína de alto peso molecular

HPB: hiperplasia prostática benigna

HPM: hiperplasia prostática maligna

HPC-1: gen específico del cromosoma 1

IHQ: inmunohistoquímica

MCA: Análisis de Correspondencia Múltiple.

MSP: Ministerio de Salud Pública

Mets: metástasis

ng: nanogramos

PCa: carcinoma prostático

PIN: neoplasia intraepitelial de alto grado

PSA: antígeno prostático específico

p63: proteína 63 de la glándula prostática en células basales.

RMN: resonancia magnética

SPINK 1: serina inhibidora peptidasa.

TAC: tomografía axial computarizada

TMPRSS2: proteasa transmembrana serina 2

ug: microgramos

X²: Prueba de Chi cuadrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Porcentajes obtenidos para la variable edad agrupada en cuatro intervalos.	57
Figura 2.	Porcentajes obtenidos para la variable tinción del marcador tumoral dual en tejidos de lesiones prostáticas.	58
Figura 3.	Porcentajes obtenidos para la variable tinción del marcador tumoral ERG en tejidos de lesiones prostáticas.	59
Figura 4.	Porcentajes obtenidos para la variable diagnóstico histopatológico de lesiones benignas y malignas.	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Estadísticos descriptivos.	56
Tabla 2.	Tabla de contingencia entre las variables marcador tumoral DUAL y diagnóstico histopatológico.	61
Tabla 3.	Resumen del análisis de X^2 entre las variables marcador tumoral DUAL y diagnóstico histopatológico.	61
Tabla 4.	Medida de asociación simétrica del procedimiento Tablas de contingencia entre las variables marcador tumoral DUAL y diagnóstico histopatológico.	62
Tabla 5.	Tabla de contingencia entre las variables marcador tumoral ERG y diagnóstico histopatológico.	62
Tabla 6.	Resumen del análisis de X^2 entre las variables marcador tumoral ERG y diagnóstico histopatológico.	62
Tabla 7.	Medida de asociación simétrica del procedimiento Tablas de contingencia entre las variables marcador tumoral ERG y diagnóstico histopatológico.	63

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	Formulario de recolección de la información. Expresión de p63/CK34bE12 y ERG en lesiones benignas y malignas de próstata.	81
Anexo 2.	Procedimiento de aplicación de la técnica de Inmunohistoquímica.	82
Anexo 3.	Fotos de inmunohistoquímica de p63/ CK34bE12 y ERG en lesiones prostáticas.	85

RESUMEN

Título: Utilidad de marcadores inmunohistoquímicos (p63/CK34bE12 (Dual) y ERG) para el diagnóstico y pronóstico de tumores benignos y malignos en próstata, utilizando muestras histopatológicas de pacientes del Hospital Enrique Garcés, Quito, de enero 2012 a agosto 2014.

Autor: Christian Andrés Benavides Vásquez. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Lugar/Fecha: Hospital Enrique Garcés – Servicio de Anatomía Patológica, Enero 2012 - Agosto 2014.

Objetivo: Optimizar el diagnóstico de los diferentes tipos de lesiones prostáticas con marcadores tumorales mediante la utilización de técnicas de inmunohistoquímica.

Método: Una vez registrados los resultados, las variables fueron ingresadas en el programa estadístico SPSS22. En base a esta matriz de datos se generaron tablas de frecuencias y tablas de contingencia (2x2). Además se aplicó la prueba exacta de Fisher, el coeficiente de contingencia. En todas las pruebas mencionadas se trabajó con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$).

Resultados: El marcador DUAL fue de mayor utilidad diagnóstica en comparación con los resultados obtenidos con ERG. La aplicación de los marcadores tumorales en lesiones de tejidos prostáticos previos permitió afirmar o descartar mediante la utilidad de la inmunohistoquímica si el diagnóstico fue certero o equívoco, siendo alarmante que varios casos con carácter benigno mostraron características malignas.

Conclusiones: Los marcadores tumorales fueron estandarizados según las recomendaciones del fabricante. El porcentaje de lesiones prostáticas benignas (HPB) fue mayor que el adenocarcinoma de próstata (AP). El marcador Dual presentó una alta correlación con el diagnóstico histopatológico, mientras que el ERG presentó un bajo porcentaje de expresión. Se necesita nuevas investigaciones para poder determinar la sensibilidad y especificidad de las pruebas de inmunohistoquímica nombradas.

ABSTRACT

Title: Utility of immunohistochemical markers (p63/CK34bE12 (Dual) and ERG) for diagnosis and prognosis of benign and malignant prostate tumors using histopathological samples of patients from Hospital Enrique Garcés, Quito, from January 2012 to August 2014.

Author: Christian Andrés Benavides Vásconez. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Place / Date: Hospital Enrique Garcés – Pathology Department. January 2012 - August 2014.

Objective: To optimize the diagnosis of different types of prostate lesions with tumor markers by means of immunohistochemical techniques.

Method: Once the results were registered the variables were set up in the “statistical package of social science 22”. Based on this data, frequency and contingency tables were built (2x2). Fisher tests and the contingency coefficient was applied using a confidence interval of 95% ($p < 0.05$) in all tests.

Outcomes: The Dual marker was the most reliable for diagnosis comparing with ERG results. Previous applications of tumoral markers in prostate tissue lesions allowed us to confirm or rule out whether the diagnosis was correct or mistaken based on immunohistochemistry. It was surprising however that some of non – malignant cases turned out to be with malignant characteristics.

Conclusions: Tumoral markers were standardized according to the manufacturer recommendations. The percentage of non – malignant prostate lesions (HPB) was

higher than the prostate cancer (CP). The Dual marker was highly correlated with histopathological diagnosis, whereas the ERG showed a low percentage of expression. New researches are needed in order to determine the sensitivity and specificity of the immunohistochemical tests.

1. CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata en el mundo occidental presenta una alta tasa de prevalencia, constituyéndose en la mayor causa de morbi-mortalidad en el hombre actual. ^{(1) (2)}

El Ecuador posee una tasa de incidencia del 29,8%, además el Registro Nacional de Tumores con la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA) la ubica como la primera causa de muerte en el hombre en el Ecuador y la segunda causa en el mundo. En el período comprendido entre 2006 al 2011 se observó una tasa estandarizada del 47,5 en 100.000 habitantes y se diagnosticaron 1.112.000 casos nuevos en residentes de la ciudad de Quito. Este cáncer se ubica en la segunda causa de muerte en este país después del cáncer de estómago. ^{(3) (4)}

El cáncer prostático es un problema de salud pública afecta a personas sobre los 45 años de edad. ⁽⁵⁾ En Costa Rica (2005) se observa una incidencia que se incrementa del 32.64 a 51.8 por 100.000 hombres en el año 1995 y 2005 respectivamente. ⁽⁶⁾

Entre los principales factores de riesgo para desarrollar esta enfermedad están: la edad avanzada, etnia y factores hereditarios, ⁽⁷⁾ aunque solamente el 10% de los cánceres están relacionados directamente con el grado familiar directo, aumentando el riesgo de 2 a 11 veces si hay uno o más familiares enfermos. ⁽⁸⁾ El factor genético juega un papel importante en el desarrollo del cáncer de próstata debido a las mutaciones que sufre el ADN, estas mutaciones activan los oncogenes e inhiben la acción de los genes supresores de tumores impidiendo la muerte celular programada

o apoptosis facilitando la proliferación celular anómala y descontrolada con capacidad de invadir tejidos adyacentes alcanzando así órganos distantes.⁽⁸⁾

El carcinoma de próstata se inicia desde una lesión poco activa a otra que puede llegar a ser muy agresiva y mortal. A nivel microscópico, los adenocarcinomas presentan una pérdida de células de la capa basal y poseen una variable diferenciación. Gleason contribuyó con la clasificación que hasta el día de hoy es muy útil para categorizar de mejor manera las lesiones malignas, permitiendo además determinar incluso el pronóstico del paciente.⁽⁹⁾

El carcinoma de próstata puede ser detectado mediante varios tipos de exámenes entre ellos está el tacto rectal (es de ayuda si el volumen del tumor es mayor a 0.2 ml), el examen serológico del antígeno prostático específico (PSA), la imagenología como la ecografía, la tomografía axial computarizada (TAC), biopsia por punción de aguja gruesa transrectal y su respectivo estudio histopatológico.⁽¹⁰⁾

Biopsia prostática transrectal: permite obtener muestras de cada lóbulo y de lesiones sospechosas visualizadas por la ecografía.⁽¹¹⁾

Antígeno prostático específico: es una proteína producida por las células de la próstata y se detecta mediante el examen del PSA.⁽¹²⁾

Estudio histopatológico: estudia tejidos para detectar lesiones benignas y malignas.

La inmunohistoquímica: utiliza diferentes anticuerpos que expresan los biomarcadores en el tejido ya sea en el núcleo, membrana nuclear, citoplasma o en organelos.

Este estudio tiene el propósito de mejorar la calidad diagnóstica aplicando anticuerpos inmunohistoquímicos (basadas en el principio antígeno-anticuerpo), que expresan diferentes sustancias presentes en células del epitelio acinar prostático, permiten diferenciar el tipo de cáncer. La utilidad de estas pruebas inmunohistoquímicas permite la diferenciación de lesiones benignas de malignas, además de detectar factores pronósticos en los pacientes. Entre los anticuerpos para lesiones prostáticas disponibles en el mercado está el anticuerpo p63 con expresión nuclear de células basales benignas,^{(13) (14)} el anticuerpo CK34bE12 que expresa las citoqueratinas de alto peso molecular.^{(15) (14)} Los doctores Shah, Weinstein y colaboradores corroboran lo descrito anteriormente y sugieren que se combine entre varios marcadores inmunohistoquímicos para obtener mejores resultados.^{(16) (17)}

Últimamente se ha estudiado un gen primario llamado ERG, un anticuerpo primario monoclonal de conejo⁽¹⁸⁾ el cual permite detectar translocaciones cromosómicas que implican el locus ERG, su expresión predice la progresión tumoral (FACTOR PRONÓSTICO). En lesiones benignas, metaplasia, atrofia e hiperplasia no hay expresión de este marcador. Varios reportes han demostrado que el anticuerpo ERG mostró una alta sensibilidad y especificidad en el cáncer de próstata lo que ayuda a diferenciarlo de la hiperplasia adenomatosa de acinos pequeños, atrofia.⁽¹⁹⁾

Mosquera JM., y colaboradores demostraron que en pacientes con neoplasia intraepitelial prostática de alto grado (PIN), ésta evolucionó hacia la invasión cuando el tejido expresó positividad con marcadores combinados TMPRSS2-ERG.⁽²⁰⁾

Vanaja y colaboradores informaron que existe sobreexpresión del oncogen ERG (presente en el cromosoma 21q22.3) en la mayoría de células tumorales del epitelio

prostático, no así en cambios benignos por atrofia.^{(21) (22)} Ro y colaboradores esperan nuevos estudios para evaluar la expresión inmunohistoquímica de EGR como valor predictivo pronóstico y para terapia en el adenocarcinoma de próstata.⁽²¹⁾

La citoqueratina de alto peso molecular (34 beta E12) y la p63 permiten demostrar la ausencia de células basales en tejido neoplásico, lo que ayuda a diferenciar entre cáncer y muestras dudosas de cáncer prostático.⁽²³⁾

En este contexto, la presente investigación buscó determinar la utilidad diagnóstica y pronóstica mediante estos anticuerpos en muestras de próstata procesadas en el Hospital Enrique Garcés durante el periodo enero 2012 a agosto 2014, buscando mejorar la calidad diagnóstica e identificar factores pronósticos útiles. Se buscó demostrar a las autoridades y especialistas de la institución la importancia de contar con una herramienta diagnóstica objetiva que es la inmunohistoquímica, y se pretendió ayudar a discernir entre lesiones con dudas diagnósticas;⁽²⁴⁾ por lo tanto, se realizó la técnica con los anticuerpos p63, CK34bE12 (dual) y ERG en muestras de próstata sometidas a estudios histopatológicos con tinción de Hematoxilina-Eosina, diagnosticados por diferentes observadores.

La técnica de inmunohistoquímica utilizada fue el método indirecto que utiliza un anticuerpo primario y por medio de un cromógeno se visualizó la reacción positiva en el tejido en el microscopio óptico de luz.

La utilización de estos marcadores tumorales mediante la inmunohistoquímica puede llegar a convertirse en una herramienta útil para detectar lesiones neoplásicas intraepiteliales e invasivas^{(25) (26)} y se convertirá en herramienta de gran utilidad y

costo efectiva en manos de los urólogos para con diagnósticos más certeros que ofrezcan los tratamientos más efectivos en pacientes con patología prostática.

2. CAPÍTULO II

2.1. GENERALIDADES DE LA PRÓSTATA

La próstata es una glándula del aparato reproductor masculino, que se localiza debajo de la vejiga, delante del recto, rodea una parte de la uretra y el cuello de la vejiga, produce el líquido que forma parte del semen, que protege y nutre los espermatozoides. ⁽²⁷⁾ Es un órgano retroperitoneal con forma de nuez y en el adulto normal pesa aproximadamente 20g. Está localizada entre el cuello vesical y el músculo transverso profundo del periné, ⁽²⁸⁾ ⁽²⁹⁾ mide aproximadamente 3 a 4 cm en la base, 4-6 cm en el céfalo caudal y 2-3 cm en la antero posterior. ⁽³⁰⁾ En la parte superior encontramos la membrana perineal y el espacio perineal profundo, los mismos que van a corresponder al diafragma urogenital. ⁽³¹⁾

La composición de la próstata está dada por 2/3 de tejido glandular y el tercio restante tejido fibromuscular. ⁽³¹⁾ Se lo puede dividir en la etapa fetal en cinco lóbulos y estos son: anterior, posterior, el lóbulo medio y finalmente dos lóbulos laterales (localizados detrás de la uretra, susceptibles de hipertrofia; ⁽³²⁾ mientras que en la etapa adulta se puede fraccionarla en dos apartados: la zona periférica, donde se origina primordialmente el carcinoma, y una zona transicional, donde se origina la patología benigna hipertrofia prostática. ⁽³³⁾

La próstata consta de una base y un vértice así también con sus respectivas caras: posterior, anterior e ínfero-laterales. ⁽³⁴⁾

- Base: Se halla constituida por fibras longitudinales externas que se van a unir con el tejido fibromuscular de la cápsula, fusionándose con el cuello de la

vejiga urinaria, además de que la uretra la perfora y atraviesa en toda su longitud a la misma. ⁽³⁵⁾

- **Ápex:** es romo y está cubierto a nivel anterior por fibras del esfínter estriado externo, en el nivel posterior se relaciona con inserciones del músculo recto-uretral y constituye a la porción más baja, la uretra va a prorrumpir por la cara anterior del vértice para devenir la porción membranosa, además se relaciona con la vena profunda del pene, los ligamentos pubo-prostáticos y las glándulas prostáticas pueden penetrar en fibras del esfínter estriado. ^{(35) (34)}
- **Cara posterior:** es plana, se localiza delante de la porción inferior del recto previa separación por el tabique recto-vesical, se relaciona con la ampolla rectal, las vesículas seminales, las ampollas deferenciales y el fondo de saco recto-vesical. ^{(35) (34)}
- **Cara anterior:** tiene la presencia de una suave convexidad, cubierta por tejido fibroso que se va engrosando a nivel caudal para formar los ligamentos pubo-prostáticos que se van a conectar directamente con los huesos púbicos. Se relaciona con la proyección craneal de la vena dorsal profunda del pene, además aquí discurre la faceta posterior de las ramas del pubis y tejido fibroareolar que da origen al espacio virtual de Retzius. ^{(35) (34)}
- **Caras inferolaterales:** están conformadas por una serie de fibras musculares entre ellas el nivel anterior por la fascia endopélvica, continuándose con

fascia periprostática, fascia elevador del ano con proyecciones anteriores del músculo elevador del ano y más lateralmente fibras del músculo obturador interno.⁽³⁵⁾

Los conductos eyaculadores van por la superficie posterior por debajo de la vejiga urinaria en sentido diagonal a unos 2 cm aproximadamente de la glándula desembocando en la porción prostática de la uretra conjuntamente con los propios conductos de la próstata.⁽³⁴⁾

La irrigación sanguínea está dada principalmente por la arteria iliaca interna, siendo sus principales referentes la arteria vesical inferior, rectal media y pudenda interna. A nivel de la base se encuentra el plexo prostático venoso que se continúa con el plexo venoso vesical que va a drenar directamente en la vena iliaca interna.⁽³⁶⁾

La función de la próstata está dada por los distintos tipos de receptores, por ejemplo la cápsula y la uretra prostática proximal poseen tipo alfa, mientras que el resto posee hormonales. Si la estimulación se da a nivel de la cápsula se verá estimulada la función de las glándulas exocrinas, si la estimulación de los receptores alfa se dan a nivel de la uretra prostática proximal se produciría el paso de la orina a través de la misma, finalmente la estimulación a nivel de los receptores hormonales están relacionados con la regulación del crecimiento y la secreción prostática.⁽³⁷⁾

Se ha estudiado que la próstata produce aproximadamente del 20% al 30% del volumen seminal.^{(31) (34)}

Su función principal es la de permitir un fluido en óptimas condiciones para que los espermatozoides posean un medio adecuado para cumplir su función. Dentro de las

sustancias que produce la próstata son: PSA, fibrinógeno, espermina, zinc, magnesio, enzimas, entre otras.

La alteración de su fisiología dará origen a múltiples patologías existentes, así siendo de origen benigno la hiperplasia benigna prostática o de origen maligno el cáncer de próstata.

2.1.1. Histología

Histológicamente la próstata es una glándula que contiene una cápsula no bien definida, la glándula es túbulo alveolar y contiene glándulas pequeñas y grandes revestidas de epitelio que se asienta sobre una membrana basal definida las glándulas se separan entre sí por estroma constituido por tejido fibromuscular; el epitelio contiene dos capas de células y son:

- Capa basal: Formada por epitelio cúbico bajo
- Capa de células cilíndricas secretoras de mucina que cubre a la anterior.

Hay áreas del epitelio que tienen prolongaciones vellosas o invaginaciones papilares.

(29)

La clasificación histológica se la puede dividir de la siguiente forma: zona de transición correspondiente al 10% ubicándose a nivel de la base con relación a la uretra y vejiga, la siguiente es la zona central correspondiente al 20% de la próstata y ésta también se ubica a nivel de la base pero con relación a las vesículas seminales y el 70% restante es la zona periférica. ⁽³⁸⁾

La zona que separa la parte estromal de la glandular que se conforma principalmente por células secretoras, se la denomina lámina propia, las glándulas se agruparán en forma de acinos y estos se verán revestidos por tejido conectivo estromal y de músculo liso. ^{(35) (38)}

La parte estromal está integrada por fibras de colágeno tipo I y tipo III, fibras de tipo elástico, fibroblastos, además de células fusiformes indiferenciadas y células musculares de tipo liso, hay que recordar que el componente estromal a nivel periférico es el que va a tomar el nombre de cápsula prostática y esta será independiente de la fascia periprostática. Hablar de un valor estándar en cuanto a espesor es muy variable, y dependerá de cada individuo. ⁽³⁵⁾

Mc.Neal realizó múltiples estudios en el período comprendido entre 1968 y 1997 en cuanto a la división anatómica de la próstata, llegando a la conclusión que dicha división tiene relevancia clínica dependiendo de la zona alterada, ⁽³⁹⁾ realizó la división anatómica de la próstata en dos zonas: glandular y no glandular ayudado de la ecografía transrectal.

- **ZONA GLANDULAR**

- ✓ **Zona de transición:** a ambos lados de los 2/3 distales de la uretra prostática, área de desarrollo de la **hiperplasia prostática**. En ella se origina el 20% de los carcinomas prostáticos.
- ✓ **Zona Central:** que rodea los conductos eyaculadores, forma un tronco de cono con la base prostática estrechándose cerca del Vero-Montanum (zona sobreelevada en el suelo de la uretra prostática donde se abren los conductos

eyaculadores). No sufre hiperplasia benigna y en ella se originan el 10% de los carcinomas.

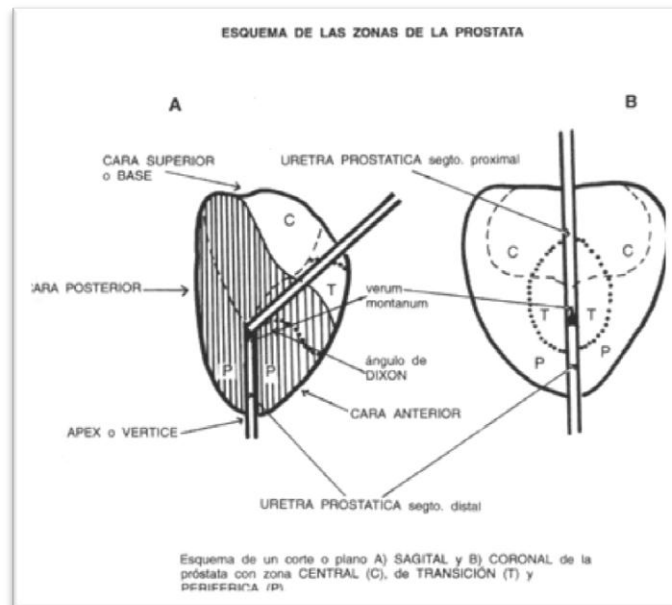
- ✓ **Zona periférica:** en situación posterolateral a la próstata, delgada en su posición cefálica engrosándose hacia el ápex. No hay desarrollo de hiperplasia y en ella se origina el 70% de los **carcinomas prostáticos**.
- ✓ **Glándulas periuretrales:** adyacentes a la uretra, rodeadas por el esfínter proximal, pueden sufrir hiperplasia benigna y en ella no se desarrollan carcinomas.

- **REGIONES NO GLANDULARES**

- ✓ **Estroma fibromuscular:** ocupa la superficie anterior de la próstata, compuesta por músculo liso y no registra cambios patológicos.
- ✓ **Esfínter proximal:** músculo liso que rodea la uretra desde el cuello vesical hasta el Vero-Montanum.
- ✓ **Esfínter distal:** músculo estriado situado antero lateralmente al segmento uretral prostático distal. ⁽³²⁾

El parénquima prostático se divide en cuatro regiones distintas anatómica y biológicamente y son:

- ✓ Zona periférica que abarca el 70% del volumen de la próstata del adulto joven (mayoría de carcinomas)
- ✓ Zona central comprende el 25%
- ✓ Zona transicional (mayoría de hiperplasias)
- ✓ Zona periuretral comprende el 5% (mayoría de hiperplasias). ^{(29) (30)}



Fuente: Rosenberg, H. *Patología de la Próstata*. Pontificia Universidad Católica de Chile ⁽³⁸⁾

La clasificación de Mc.Neal divide a la próstata en 4 zonas: anterior, periférica (70%), central (20-25%) y de transición (5-10%). Las neoplasias malignas se producen en la zona periférica cerca del 80%, en la zona de transición del 10-20% y en la zona central cerca del 5%, mientras que aproximadamente el 70% de las hiperplasias prostáticas benignas se localiza en la zona de transición. ⁽³⁹⁾ La región anterior está ausente de glándulas y está en contacto en su cara anterior con la uretra prostática y preprostática. ⁽³⁵⁾

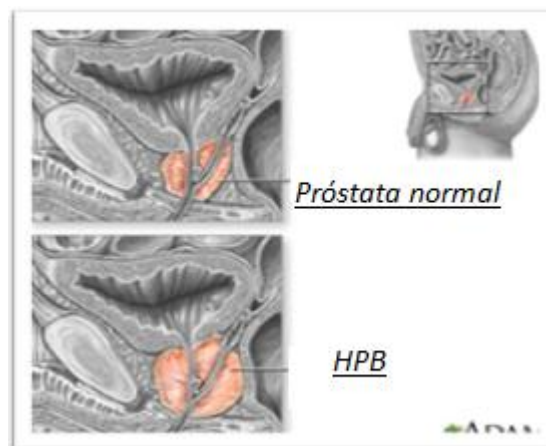
2.2. PATOLOGÍAS DE PRÓSTATA

2.2.1. Hiperplasia prostática benigna

La hiperplasia prostática benigna (HPB) antes llamada hipertrofia (término no adecuado debido al principio fisiopatológico que indica aumento celular de las células prostáticas y del tejido estromal ⁽⁴⁰⁾), es el aumento del número de células y

tejido estromal principalmente en la zona de transición periuretral y es allí donde se inicia la HPB ^{(41) (40)}. Varios estudios indican que la hiperplasia prostática benigna produce agrandamiento de la próstata por crecimiento glandular y estromal con consiguiente obstrucción uretral y problemas en la micción. ^{(42) (43) (44) (45)}

La HPB afecta aproximadamente el 50% de la población masculina. Rubinstein y colaboradores (2013) indican que se presenta en varones de 60 años y alcanza un 90% en pacientes de 85 años de edad, además refieren que de este porcentaje solamente el 50% tendrá un crecimiento macroscópico de la glándula y la mitad presentará sintomatología, ⁽⁴⁴⁾ datos epidemiológicos similares describe la Asociación española de urología. ⁽⁴⁶⁾



Fuente: <http://umm.edu/health/medical/spanishency/images/hpb>

Los síntomas pueden variar entre ninguno a moderados o severos. El aumento celular que produce aumento del tamaño de la glándula prostática, conlleva un alto costo para la salud pública por las consecuencias que tiene el aumento progresivo conforme aumenta la edad del paciente.

La sintomatología es secundaria al aumento de la próstata y consiste en:

- *Compresión de la uretra*
- *Dificultad para la micción*
- *Retención urinaria*
- *Distensión vesical*
- *Nicturia*
- *Disuria*
- *Goteo posterior a la micción*
- *Infecciones, etc.* ⁽²⁹⁾

Los factores de riesgo preponderantes son la edad, antecedentes patológicos familiares genéticos, dieta rica en vegetales que contienen alta cantidad de carotenos y fitoestrógenos, etnia negra y que los testículos se encuentren funcionantes. ^{(41) (44)}

El científico Hammarsten (2002) indicó que otro factor de riesgo es el hiperinsulinismo y muestran una prevalencia más acentuada de esta lesión. ⁽⁴¹⁾

- *“La probabilidad de desarrollar agrandamiento de próstata se incrementa con la edad.*
- *La HPB es tan común que se ha dicho que todos los hombres tendrán agrandamiento de próstata si viven lo suficiente.*
- *Un pequeño grado de agrandamiento de la próstata está presente en muchos hombres mayores de 40 años y en más del 90% de los hombres mayores de 80 años.*

- *No se han identificado factores de riesgo distintos al hecho de tener testículos que funcionan normalmente”* ⁽⁴⁷⁾

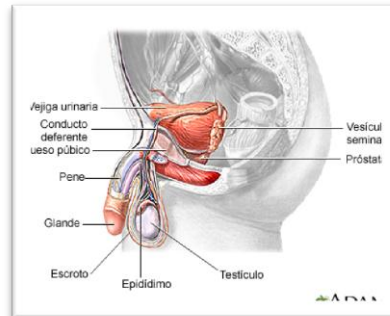
Entre las posibilidades de que se origine la hiperplasia prostática está la relación estrecha con los andrógenos y se produce de la siguiente manera:

- La testosterona que se produce en los testículos es convertida en un andrógeno llamado dehidrotestosterona (metabolito de la testosterona)
- La dehidrotestosterona (DHT) se sintetiza en el estroma por acción de la 5α -reductasa tipo 2 lo que estimula el crecimiento de la próstata.
- Luego la DHT actúa en forma autocrina sobre las células estromales y en forma paracrina sobre las células epiteliales próximas.
- La DHT en las células estromales y epiteliales se une a receptores nucleares de los andrógenos y emite señales para la transcripción de factores de crecimiento permitiendo las mitosis celulares.

Cuando no se permite la acción de la 5α -reductasa tipo 2 no hay mucha producción de DHT y por ende baja notablemente la HPB en muchos pacientes. ⁽²⁹⁾

Otros autores indican que la enzima aromatasa convierte la testosterona en estrógenos inhibiendo la muerte celular en presencia de andrógenos. ^{(41) (40)}

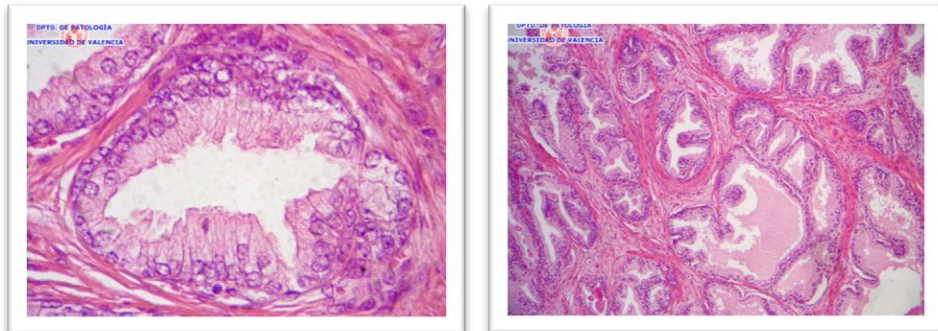
Partes anatómicas de la próstata



Fuente: <http://umm.edu/health/medical/spanishency/articles/agrandamiento-de-la-prostata>

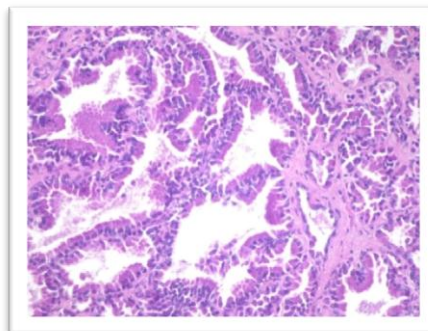
Histológicamente se describen varios aspectos microscópicos. Presenta hiperplasia de células epiteliales y del estroma, presencia de nódulos hiperplásicos con glándulas epiteliales y estroma fibromuscular o mixto. ⁽²⁹⁾ (48)

Corte histológico de próstata normal



Fuente: <http://www.uv.es/histomed/practicas/02-epgla/02-epgla.htm>.

Corte histológico de hiperplasia prostática benigna



Fuente: <http://www.barnaclinic.com/blog/mens-health/category/hiperplasia-de-prostata/page/2/>

El tejido estromal de la HPB muestra fibroblastos y células musculares lisas de variadas formas, puede observarse estroma con células mesenquimales indiferenciadas o fibroblastos inmaduros, tejido fibroadiposo y metaplasia transicional con núcleos ovoides, alargados y ocasionales hendiduras que cruzan longitudinalmente al núcleo.⁽⁴⁸⁾

Ántunez y colaboradores indican dependiendo de sus características histológicas, los nódulos hiperplásicos pueden ser estromales, fibromusculares, musculares, fibroadenomatosos y fibromioadenomatosos.⁽⁴⁸⁾

2.2.2. Patologías que simulan cáncer de próstata

Atrofia prostática: tanto la atrofia parcial como la hiperplasia prostática simulan cáncer, debido a la desorganización de los acinos, algunos con bajo citoplasma y palidez citoplasmática, núcleos aumentados de tamaño y con nucléolo.

Adenosis: simula cáncer principalmente en zona de transición, se caracteriza por proliferación glandular, con glándulas pequeñas sospechosas, con nódulos grandes y elongados dentro de un nódulo de forma papilar y núcleos uniformes.

Adenosis esclerosante: es una lesión que se encuentra en una resección transuretral de la próstata, donde se observa la proliferación de glándulas bien formadas, mezcladas con una lámina de células epiteliales algo atípicas, con un fondo denso de células fusiformes.^{(49) (50)}

Xantoma: lesión rara que simula cáncer, se presenta como nódulo sólido circunscrito, se observa como si estuviera formado por cuerdas, muestra células de citoplasma espumoso, núcleos normales sin nucléolos prominentes ni mitosis.

2.2.3. Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es un crecimiento celular desordenado y aumentado, lo que desencadena que mecanismos de control sean anormales permitiendo a las células neoformadas invadir a otros tejidos. ^{(2) (51)}

Cuando se habla de cáncer se debe tomar como principio fisiopatológico genético el daño de las células diana de los tejidos, siendo entre los más relevantes: los protooncogenes, gen regulador de apoptosis (genes dominantes) y gen supresor de tumores (gen recesivo). ⁽⁹⁾

Existen diversos tipos de células a nivel prostático, las principales son las glandulares que pueden dar origen al adenocarcinoma, otros tipos de tumores menos frecuentes están los adenocarcinomas mucinosos, adenocarcinomas ductales, carcinoma transicional, carcinomas neuroendocrinos o de células pequeñas. Otro tipo de células son las estromales que pueden dar origen a los sarcomas como el leiomioma, fibrosarcoma y el rabdomiosarcoma. ^{(2) (38) (52)}

El carcinoma prostático en el mundo occidental demuestra una alta tasa de prevalencia, constituyendo para el hombre la mayor causa de morbi-mortalidad, ^{(1) (2)} presenta una incidencia de 25 por cada 100000 habitantes. ⁽⁵³⁾

En los últimos años en el continente Europeo (2008) el carcinoma de próstata se ha convertido en el más frecuente e incluso llegando a una tasa de incidencia de 65 por cada 100.000 habitantes en los últimos años. ⁽⁵⁴⁾

En Costa Rica (2005) se observa una incidencia que se incrementa del 32.64 a 51.8 por 100.000 hombres en el año 1995 y 2005, respectivamente. ⁽⁶⁾

El Ecuador posee una tasa de incidencia del 29,8% y la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA) la ubica como la primera causa de muerte en el hombre y la segunda en el mundo, en el período comprendido entre 2006 al 2011 se observó una tasa estandarizada del 47,5 en 100.000 habitantes y se diagnosticaron 1.112.000 casos nuevos en residentes de la ciudad de Quito, este cáncer se ubica en la segunda causa de muerte en este país después del cáncer de estómago. ^{(3) (4)}

Entre los factores de riesgo para desarrollar esta enfermedad están principalmente los factores genéticos, hereditarios, ambientales e infecciosos.

El factor genético es sumamente importante para el desarrollo del cáncer de próstata debido a las mutaciones que sufre el ADN de las células de la próstata, los mismos que activan los oncogenes e inhiben la acción de los genes supresores de tumores impidiendo la muerte celular programada o apoptosis provocando una proliferación celular anómala y descontrolada con capacidad de invadir tejidos adyacentes hasta alcanzar órganos distantes. ⁽⁸⁾ Se indica que el gen específico HPC-1 del cromosoma 1 es el que permite el desarrollo de desarrollar cáncer de próstata. ⁽⁵⁵⁾

En el año 2013 en la revista “*Journal of Clinical Oncology*” se indicó que las mutaciones que se producen en el gen BRCA2 influyen en un pronóstico no

adecuado y de peores características en comparación a pacientes que no padecen dicha lesión genética, además el riesgo de metástasis es mucho mayor.⁽⁵⁶⁾

Como se habló en la HPB la patogenia del carcinoma prostático se debe a receptores androgénicos en las células epiteliales por su alta conexión entre la hormona y el receptor, además se ha confirmado con orquitectomías la disminución del riesgo de padecer cáncer.^{(38) (57)}

Existe una línea de células germinales que poseen genes susceptibles al carcinoma prostático, y dicha lesión se localiza en el cromosoma 1q24-25, y se han encontrado los genes supresores alterados en los cromosomas 8p, 12p, 10q y 16q, tema que aún falta por esclarecer en su totalidad.⁽⁵⁷⁾

En todo tipo de cáncer lo relevante es poder diagnosticarlo precozmente, en este punto el Instituto Nacional del Cáncer indica que cuando se ha detectado cáncer de próstata en un paciente, se debe realizar un examen preventivo de PSA al otro hermano para lograr diagnosticar en forma más incipiente esta enfermedad.^{(58) (59)}

Los factores hereditarios y la relación con el grado de familiaridad que tiene un paciente con otro para determinar el riesgo de heredar cáncer de próstata es significativamente alto, y mayor será la probabilidad si la línea de consanguineidad es primera.

Gronberg y colaboradores (1996), indicaron que un primer grado de familiaridad incrementa el riesgo al doble y dos o más familiares de primer grado incrementa el riesgo de 5 a 11 veces (herencia mendeliana).⁽⁶⁰⁾ En la actualidad Heidenreich y colaboradores (2011), al factor hereditario lo consideran como uno de los principales

factores de riesgo de desarrollar cáncer de próstata,⁽⁷⁾ del total de cánceres solamente el 10% son relacionados directamente con el grado familiar directo de cada paciente,⁽⁸⁾ debido al perfil de herencia mendeliana.

Los factores hormonales demuestran que la enzima aromatasa convierte la testosterona en estrógenos inhibiendo la muerte celular en presencia de andrógenos.

(41) (40)

Los factores ambientales juegan un rol importante ya que se ha demostrado que estos influyen en el desarrollo del carcinoma debido a que pacientes donde se ha observado menor incidencia, al viajar a otros lugares donde la incidencia es mayor se hacen propensos con mayor facilidad a desarrollar esta enfermedad.

Los factores infecciosos poseen también su relación con el cáncer prostático siendo la prostatitis aguda la más correspondida a padecer hiperplasias nodulares prostáticas en pacientes con edad menor a 40 años.⁽³⁸⁾

El cáncer prostático afecta a personas sobre los 45 años de edad, constituyéndose en un problema de salud pública en países desarrollados donde se observa un mayor número de habitantes sobre los 65 años.^{(5) (54)}

2.2.3.1. Histopatología

El cáncer prostático se localiza en la zona periférica de la glándula prostática en un 70% y ésta ubicación permite ser detectado al tacto rectal. ⁽⁵⁷⁾ ⁽⁵²⁾ La etiología no está totalmente comprobada, criterios científicos divergen en que debe existir siempre una lesión precancerosa. ⁽²⁾ Para poder determinar si es tumor maligno a un tumor bien diferenciado se debe estudiar la cápsula que muestra infiltración tumoral e infiltración perineural en conductos sanguíneos o linfáticos. ⁽⁹⁾

La forma más común de cáncer de próstata es la adenocarcinomatosa y muestra patrones glandulares, muy visibles. ⁽⁶¹⁾

La presentación tumoral se la observa como masas redondas con buena delimitación entre sí, ante las cuales se debe realizar el diagnóstico diferencial con la hiperplasia nodular, las características histológicas del carcinoma de próstata son las glándulas hiperplásicas con células cilíndricas de escasa altura, núcleos aumentados de tamaño con nucléolos y citoplasma vacuolar, hay ausencia de células de la capa basal y las glándulas pueden tomar un patrón glandular papilar o cribiforme. ⁽⁹⁾

En el adenocarcinoma acinar se observan acinos pequeños, muy juntos entre sí dispuestos “espalda con espalda”, debido al escaso tejido estromal, están revestidos por una sola capa de células. Estas características también pueden ser identificadas en otro tipo de tumores no muy bien diferenciados donde el estroma es variable y los acinos se dispondrán en cordones, nidos o sábanas. ⁽⁹⁾

Histológicamente el adenocarcinoma es el tumor de próstata que se presenta en un 95% de los tumores encontrados, observándose otros tumores en menores

porcentajes y corresponden a: cáncer acinar intralobular, cáncer ductal, de células claras, mucinosos y de células pequeñas. ⁽⁶²⁾ ⁽⁶³⁾

El adenocarcinoma acinar posee los siguientes diagnósticos diferenciales:

- Adenocarcinoma ductal (originado en los conductos periféricos), este cáncer es similar que el de tipo acinar y tiene mal pronóstico. Al contrario si se trata de un carcinoma originado en los conductos periuretrales, las características a observarse serán similares al carcinoma urotelial. ⁽⁵⁷⁾
- Cáncer epidermoide prostático generalmente está asociado a un tratamiento hormonal previo. Si el cáncer presenta mucina en sus células se lo denomina carcinoma coloide o mucinoso. ⁽⁵⁷⁾
- Carcinoma microcítico que tiene un comportamiento más agresivo y en el momento de su hallazgo ya tiene metástasis.
- El estroma de la próstata produce un tipo de adenocarcinoma de tipo mesenquimal.
- Linfoma tiene una característica especial en donde las primeras características que se van a dar es en la próstata, previamente a sintomatología de tipo sistémico. ⁽⁵⁷⁾

Para determinar el tipo histológico de cáncer prostático más adecuadamente, los especialistas se basan en la escala de Gleason. ⁽³⁸⁾

El cuadro clínico del cáncer de próstata posee síntomas similares a la hiperplasia prostática y son los signos obstructivos los que más prevalecen, siendo las consecuencias posteriores como la disminución del flujo urinario, urgencia

miccional, hematuria, impotencia sexual, nocturia, vaciado incompleto de la orina, dolor a nivel de columna vertebral, dolor y adormecimiento de miembros.^{(2) (27)} El problema se agrava cuando no es detectado a tiempo y en la práctica se observan pacientes que llegan a consulta muchas veces con diseminación del tumor a otros órganos.

El diagnóstico clínico entre HPB y carcinoma de próstata es limitado, dado a la similitud de sintomatología que se presenta entre una y otra patología. Esto ha permitido que con el tacto rectal se pueda obtener información más precisa,^{(54) (64)} los exámenes de laboratorio también orientan mucho al determinar el antígeno prostático (PSA) y ante la sospecha de tumor se debe realizar la biopsia prostática biopsia.⁽⁵⁴⁾

La forma correcta de realizar el tacto rectal es informar al paciente en forma clara el procedimiento a seguir, luego con un dedo puesto guante y bien lubricado, se introduce por el recto hasta tocar la próstata donde se estudia su tamaño, consistencia, irregularidades, bordes y sensibilidad.⁽⁵⁴⁾

El análisis del PSA consiste en determinar el valor de esta proteína a nivel sanguíneo la cual se eleva ante un carcinoma prostático, esta prueba se la debe correlacionar con el tacto rectal del paciente.

Recordar que el tacto rectal como el PSA no son patognomónicos del carcinoma prostático. El diagnóstico diferencial debe ser principalmente con HPB, e informarse

si el paciente previo al examen ha tenido relaciones sexuales, ha montado bicicleta o motocicleta o si tiene prostatitis. ⁽⁵⁴⁾

En un Consenso de Sociedades Médicas realizado en Argentina (2014) se demostró que el empleo del laboratorio en busca de PSA es controversial debido a que pacientes con valores basales de 1 ng/ml o menor valor en los que se realizó un seguimiento durante 25 años, se observó una tasa de incidencia de metástasis de 0.5% y 0.2% de mortalidad. ⁽⁶⁵⁾

El Gold estándar para determinar carcinoma de próstata es la biopsia prostática, existen varias vías para la obtención de tejido y son: rectal, perineal y uretral. ⁽⁵⁴⁾

La PCA 3 se lo puede realizar siempre y cuando el PSA muestre niveles altos y el estudio histopatológico de la biopsia sea negativo. ⁽⁵⁴⁾

Existen exámenes complementarios como imagenología, TAC, RMN, terapia de protones, así también los marcadores tumorales empleados en inmunohistoquímica se detallarán en el apartado correspondiente. ⁽⁶⁴⁾

El tratamiento que se debe dar al paciente dependerá de varios factores entre ellos el puntaje obtenido del Escore de Gleason, condiciones del paciente, factores pronósticos, edad. Si el cáncer se ha diseminado, se debe realizar prostatectomía radical, dar radioterapia, braquiterapia o terapia de protones. Cuando el paciente es de edad muy avanzada únicamente se puede vigilar el PSA y realizar biopsia.

Cuando el tumor se encuentra en etapas avanzadas se puede emplear la inmunoterapia y quimioterapia.⁽⁶⁴⁾

2.2.3.2. Lesiones pre-malignas

Neoplasia prostática intraepitelial (PIN)

Esta lesión se presenta en edades tempranas como 20 años y se observa un 50% de hombres con PIN en los 50 años.

La lesión se la observa con cambios microscópicos celulares de la glándula per se, si los cambios son notables tienen otra característica y éstas aparentemente no invaden otros sitios de la próstata.^{(2) (66)}

Los PIN se clasifican en:

- PIN de bajo grado con células “casi” normales
- PIN de alto grado con células anómalas.⁽²⁾

Atrofia inflamatoria proliferativa (PIA)

La lesión que se puede apreciar en la atrofia inflamatoria proliferativa es la de que las células son pequeñas acompañada de signos inflamatorios.⁽²⁾

En pacientes que poseen un diagnóstico de PIN de alto grado, realizan nueva biopsia prostática,⁽²⁾ observándose que en 10 años este progresa a un proceso carcinomatoso.⁽⁵⁷⁾

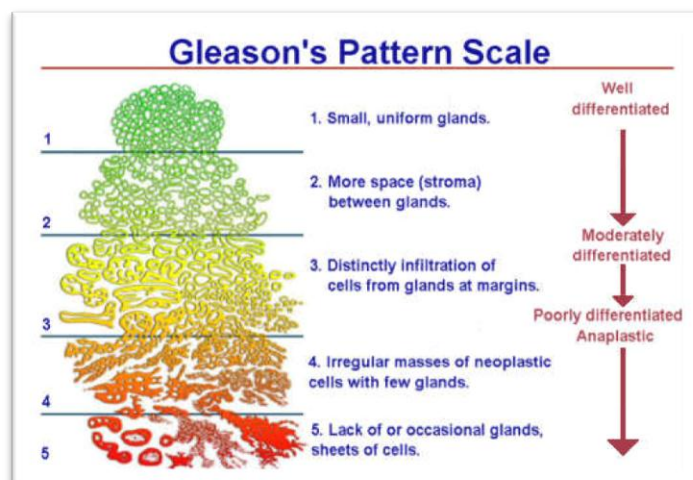
En el 80% del tejido prostático carcinomatoso puede tener lesiones concomitantes como las anteriormente descritas.⁽⁵⁷⁾ Menos del 10% de tumores son uninodulares.⁽³⁸⁾

2.2.3.3. Escala de Gleason

La escala de Gleason es un sistema que mide el grado de malignidad o agresividad del cáncer de próstata, tumor de mama y otros. Esta escala permite gradar la invasión del tumor y le da un valor dependiendo de si hay metástasis o no.^{(52) (67) (68)}

La clasificación de Gleason se la calcula según dos patrones significativos histológicos al dividir la muestra en zonas y a cada una dar una puntuación de 1 al 5, dando un total de 10 puntos como máximo y 2 puntos como mínimo, donde:

- *“Escala de Gleason entre 2 y 6: Cáncer con escasa agresividad, crecimiento lento y por lo tanto de mejor pronóstico.*
- *Escala de Gleason de 7: Cáncer con agresividad intermedia.*
- *Escala de Gleason entre 8 y 10: Cáncer de alta agresividad, y peor pronóstico ”⁽⁶⁷⁾*



Fuente: Score de Gleason (2012) Monthly Journal of Updates and Information.

2.3. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

2.3.1. Técnica de Hematoxilina – Eosina

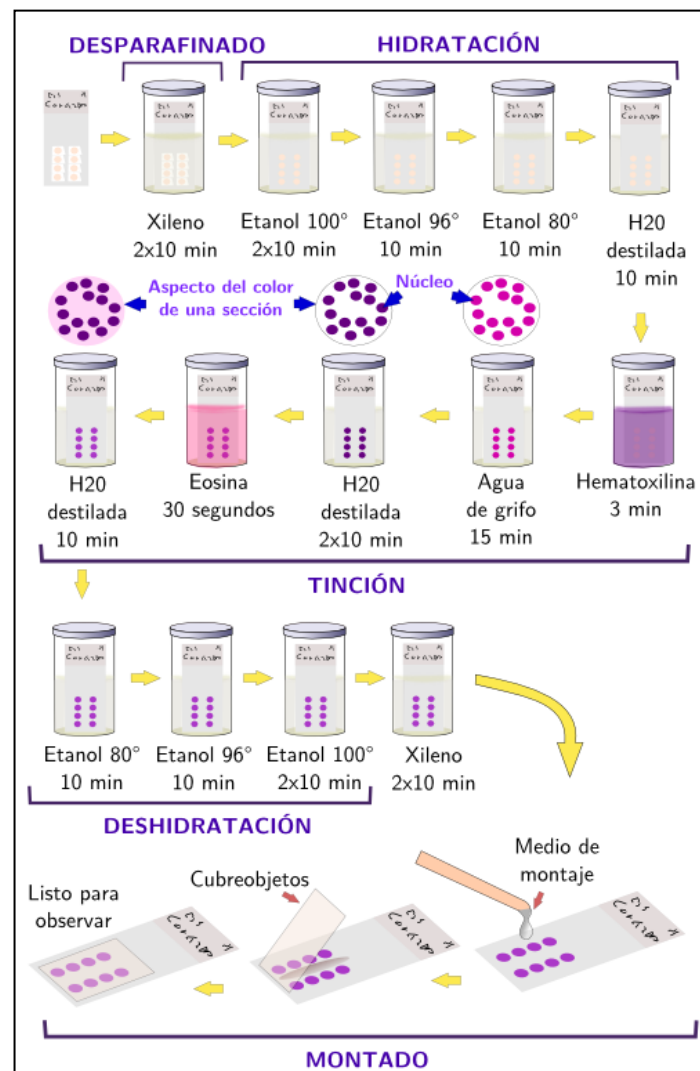
Un tejido seleccionado para estudio histopatológico debe seguir una serie de procedimientos que se detallan a continuación:

- Fijación: el tejido se sumerge en formalina neutra para preservarlo y mantiene las características morfológicas propias del tejido.
- Deshidratación: consiste en el paso del tejido por diferentes recipientes con alcohol ascendente de 80 a 96 grados.
- Aclaramiento: consiste en el paso del tejido por dos cambios de xilol que permite el aclaramiento del tejido.
- Parafinización: el tejido pasa por dos vasos de parafina diluida con la finalidad que el tejido sea embebido de parafina en todas sus cavidades.
- Bloqueo: se realizan los bloques de parafina para poder cortarlos en micras.
- Cortes en el micrótom: el tejido se corta en el micrótom: en láminas de 0,4 a 0,6 micras.
- Pesca: las secciones de tejido son colocadas en un baño de flotación para su extensión y pesca en las láminas portaobjetos
- Tinción con Hematoxilina-Eosina.

La tinción de Hematoxilina-Eosina es una técnica muy utilizada en el Laboratorio de Anatomía Patológica, que permite identificar estructuras nucleares y citoplasmáticas de un tejido o célula estudiada con la finalidad de observar la morfología normal, con cambios inflamatorios, preneoplásicos o neoplásicos.

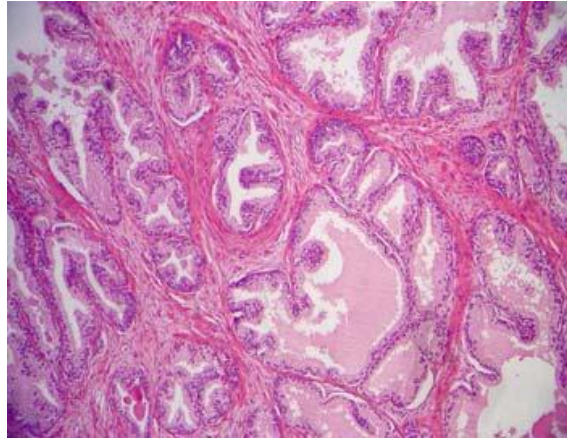
La Hematoxilina es un colorante básico vegetal indirecto que tiñe los ácidos nucleicos de color azul o violeta, La eosina es un colorante ácido artificial que colorea de color rosado a rojo las proteínas de las células y se puede utilizar con soluciones acuosas o alcohólicas. Los colorantes ácidos son colorantes citoplasmáticos mientras que los básicos son colorantes nucleares.⁽⁶⁹⁾

Tinción de Hematoxilina-Eosina:



Fuente: <http://webs.uvigo.es/mmegias/6-tecnicas/5-general.php>

Glándula prostática con coloración hematoxilina – eosina.



Fuente: <http://www.uv.es/~histomed/medicina/01/Med01-06.html>

La técnica de Hematoxilina-Eosina en los tejidos, permite al médico patólogo observar células con sus características morfológicas benignas y malignas, pero pueden haber cambios que muchas veces causan dificultad para emitir un diagnóstico, felizmente hoy existe la inmunohistoquímica que permite detectar lesiones mucho más pequeñas y limitadas en los tejidos.

2.3.2. Inmunohistoquímica

Inmunohistoquímica es un método diagnóstico que permite localizar antígenos específicos en células o tejidos basados en el reconocimiento y enlace antígeno anticuerpo. ⁽⁷⁰⁾

Existen lesiones pequeñas que causan dificultad diagnóstica y podrían no ser detectadas a tiempo debido a que son muy incipientes, y esto se constituye en reto

para el médico Patólogo: detectar lesiones incipientes a tiempo y no permitir su avance a estadios más graves que ponen en riesgo la vida de los pacientes.

En este contexto, la inmunohistoquímica ha contribuido grandemente para el diagnóstico de lesiones en la próstata, y entre los beneficios que brinda la inmunohistoquímica está:

- Encontrar marcadores celulares de tumores específicos
- Encontrar marcadores de proliferación celular
- Contribuye a encontrar factores pronósticos en los tumores malignos. ⁽⁷¹⁾

El procesamiento (Anexo 2) de muestras de inmunohistoquímica se realizó con el método de tinción cromógeno diaminobencidina (DAB) en una laminilla portaobjetos con carga positiva para p63/CK34bE12 y en otra laminilla para ERG, se procedió de la siguiente manera:

- Se seleccionó los bloques de tejido fijados en formol buferado al 10% y embebidos en parafina
- Se realizó cortes en el micrótomos de 4-6 micras
- Se depositó los cortes en baño de flotación a 50 grados centígrados de temperatura para estirar el tejido
- Se pescó el tejido en portaobjetos con carga positiva que evita desprenderse
- Se depositó las láminas con las secciones de tejido en el equipo de inmunotinción

Protocolo de tinción recomendado para VENTANA Basal Cell Cocktail (34βE12+p63) con /VIEW DAB Detection Kit en un equipo BenchMark XT.	
Tipo de procedimiento	Método
Desparafinado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (Desenmascaramiento del antígeno)	Cell Conditioning 1, estándar
Anticuerpo (primario)	Equipo BenchMark XT Aproximadamente 32 minutos, 37 °C
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos
Contratinción posterior	Bluing, 4 minutos

Fuente: Ventana, Medical Systems, Inc. (2010) VENTANA Basal Cell Cocktail (p63+CK34βE12)

En el equipo se efectuó lo siguientes pasos:

- El desparafinado
- La recuperación de antígenos con un acondicionador celular
- CC1 suave
- CC1 estándar
- Anticuerpo primario
- Anticuerpo secundario y forma complejo Ag-Ac (dual p63+CK34βE12 en una laminilla, y en otra ERG), incubación 12 minutos.
- Lavado de residuos (*ultralavado para ERG*)
- Contratinción (cromógeno que permite visualizar el enlace Ag-Ac, método indirecto)
- Tinción de contraste con Hematoxilina, incubación 12 minutos
- Post contratinción
- Aplicó reactivo azulado
- Post contratinción
- Montaje con coverslip e incubar 4 minutos
- Etiquetado

Para obtener mejores resultados se procedió como indica la técnica, es decir se estandarizó, se buscó el mejor cromógeno para la expresión de los anticuerpos y se realizó controles positivos y negativos. ⁽⁷²⁾

La literatura indica que la inmunohistoquímica utilizada en la próstata permite diferenciar lesiones benignas de malignas con el propósito de conocer diagnósticos correctos, así busca diferenciar lesiones que semejan malignidad como: atrofia, xantoma, adenoma prostático y adenoma esclerosante. ⁽⁷³⁾

2.3.3. Marcadores tumorales

Los marcadores tumorales son sustancias, como proteínas y genes, producidos tanto por células del mismo organismo para defenderse de ciertas condiciones, agresiones o el cáncer, o por ciertas células tumorales, y se los puede encontrar en los fluidos corporales, en tumores o en ciertas células estudiadas. ⁽²⁾

En la actualidad existe una variedad de marcadores tumorales, unos específicos para un solo tipo de tumor y otros pueden estar presentes en varios tipos de tumores. La utilidad de la detección de marcadores tumorales se basa en la determinación del tumor, permite discernir entre benignidad y malignidad, ayuda al seguimiento de tratamientos para determinar su progresión o regresión tumoral.

En referencia al cáncer de próstata se conocen los siguientes marcadores: la fosfatasa ácida prostática (antes muy utilizada), el antígeno prostático específico, p63, citoqueratinas de alto peso molecular, α -methylacyl coenzyme racemase (AMACR, o P504S), p63, citoqueratinas, ERG, etc.

La técnica de inmunohistoquímica con p63/CK34βE12 tiene como objetivo la observación de células basales, sea ésta utilizando un solo marcador o el dual, este último mejora la calidad de observación de células normales basales, pero no es útil para expresar células atípicas,⁽⁷³⁾ la aplicación inmunohistoquímica del dual permite diferenciar los imitadores de cáncer prostático de neoplasias malignas.^{(2) (72)}

2.3.3.1. p63

Entre los anticuerpos existentes para lesiones de próstata está el anticuerpo p63 que permite expresar los núcleos de células basales benignas,^{(13) (14)} y está ausente en células secretoras y neuroendocrinas.⁽⁷⁴⁾

Las codificaciones de p63 son homólogas a p53 pero consta de diferentes isotipos, p63 se expresa en células basales de células mioepiteliales. Los carcinomas que expresan p63 son carcinomas escamocelulares, uroteliales a excepción de adenocarcinomas uroteliales, de mama y próstata.^{(75) (76)}

En la investigación que realizó Kalantry y colaboradores se observó la expresión de la p63 en las hiperplasias glandulares benignas y en neoplasias de alto grado⁽⁷⁷⁾ mientras que las muestras con carcinoma prostático no son expresadas con este marcador.⁽⁷⁸⁾

Existen varios isotipos de p63 que estarían en la epidermis, cuello uterino, urotelio y próstata, ésta última presenta un terminal ácido N que es un inhibidor de la transcripción de p53,⁽⁷⁹⁾ p63 se expresa en carcinomas escamocelulares y uroteliales,⁽⁷⁵⁾ se expresa en hiperplasias prostáticas benignas y PIN de alto grado,⁽⁷⁷⁾ no se

observa expresión en cáncer.⁽⁷⁸⁾ La expresión se manifiesta en los núcleos de células basales prostáticas, mioepiteliales y células de la piel y mama.⁽⁷⁶⁾

Últimamente se ha descubierto una nueva forma de expresión tumoral en próstata donde se expresa el gen p63 y no se expresa la citoqueratina de alto peso molecular (HMWCK) y corresponde a un tumor de células secretoras no dispuestas en la capa basal.⁽⁸⁰⁾

Se debe tener en cuenta que si no hay expresión de células basales por este marcador, no siempre se deberá a cáncer.⁽⁷⁸⁾

2.3.3.2. CK34bE12

Las citoqueratinas son filamentos intermedios de las células epiteliales y en ciertas células no epiteliales como tumores de células musculares, sarcomas, melanomas, gliomas, plasmocitomas y ciertos linfomas. Son anticuerpos de alto peso molecular que permiten determinar la presencia de células basales del epitelio prostático benigno.⁽⁸¹⁾

Este marcador puede expresarse en la atrofia, adenosis y adenosis esclerosante prostáticas,⁽⁷³⁾ en hiperplasia glandular benigna y en PIN de alto grado,⁽⁷⁷⁾ estos parámetros permiten a los patólogos diferenciar diagnósticos positivos de negativos.

⁽⁸²⁾

2.3.3.3. Marcador Dual p63/CK34bE12

Los marcadores p63 y CK34bE12 (dual) expresan las células basales o mioepiteliales de próstata independientemente ⁽⁷⁴⁾ y al combinarlos se obtiene una expresión mucho más evidente ya que marcan el citoplasma y núcleo de dichas células. ⁽²¹⁾

El marcador p63 expresa los núcleos de células basales normales, mientras que el marcador CK34bE12 expresa el citoplasma de células basales normales.

La tinción dual es el resultado de combinar dos anticuerpos producidos en el ratón y se los obtiene de su líquido ascítico. Al realizar la tinción de inmunohistoquímica de este anticuerpo dual se debe realizar con control positivo que puede ser corte de próstata o de piel normales. Los resultados obtenidos son expresión en citoplasma y núcleos de células basales expresados, la especificidad alcanzada en estudios muestra una relación de 139/139 mostrando un 100% de especificidad, con una sensibilidad de 4/150. ⁽⁷²⁾

La expresión de este marcador dual es mucho más intensa que al realizarlo por separado ⁽⁸³⁾ y se presenta en las células de la siguiente manera:

- Marcador p63 se expresa en el núcleo de color marrón oscuro, y el marcador citoqueratina se expresa en el citoplasma de células basales y no se expresa en células atípicas. ⁽²⁾
- La expresión puede ser fuerte, moderada y débil o negativa. ^{(77) (78)}

Glándula prostática con inmunotinción Dual.



Fuente: Ventana, Roche. Expresión positiva p63/CK34bE12 (Dual) para HPB.

La ausencia de expresión nuclear en técnicas IHQ duales entre p63/CK34bE12 ayuda en el diagnóstico de tumores dudosos o presencia de focos mínimos de cáncer, ⁽²³⁾permite también diferenciar cáncer de próstata de los imitadores de cáncer, ⁽⁷⁷⁾se recomienda utilizar el marcador dual p63/CK34bE12 para mejorar la especificidad y sensibilidad diagnóstica. ^{(18) (84) (85)}

Ming y colaboradores indicaron que la expresión de resultados puede ser de fuerte, moderada, débil y negativa, y que si se expresan las $\frac{3}{4}$ partes de la glándula se denomina expresión completa, si expresa menos del 25% de la circunferencia glandular la expresión es parcial. ⁽⁷⁸⁾

En el presente estudio se tomó en cuenta como técnica inmunohistoquímica dual positiva cuando haya expresión nuclear y citoplasmática.

2.3.3.4. ERG

El biomarcador ERG es un anticuerpo monoclonal que actúa sobre el gen regulador de la transcripción ETS, este anticuerpo detecta el ERG natural y el ERG truncado presente en el adenocarcinoma de próstata. ⁽¹⁸⁾ ERG es un anticuerpo primario obtenido del conejo como sobrenadante de un cultivo de células purificado, que expresa los núcleos del endotelio vascular normal y de las células tumorales prostáticas. ⁽¹⁸⁾ ⁽⁸⁶⁾ El grado de expresión dependerá del grado de malignidad alcanzado por las células prostáticas reguladas por los andrógenos. ⁽⁸⁷⁾

Últimos estudios sobre patogénesis del cáncer de próstata del gen ERG, indican que detecta translocaciones cromosómicas implicadas en el locus ERG cuya expresión indicará progresión tumoral. En el tejido se observa una expresión uniforme en el núcleo y en el citoplasma en forma débil en células malignas. Para que se desarrolle cáncer prostático debe haber reordenamiento genético regulado por los andrógenos y por codificaciones genéticas eritroblásticas. ⁽⁸⁷⁾ ⁽⁸⁸⁾

La interpretación debe ser minuciosa y siempre relacionarla con la contraparte teñida con Hematoxilina-Eosina. ⁽¹⁸⁾

El marcador tumoral ERG muestra una alta especificidad para el tejido endotelial. ⁽⁸⁹⁾

La sensibilidad de este biomarcador está demostrada en un 48,5% de adenocarcinomas de próstata, un 30% en cáncer metastásico sin tratamiento, y un 19% en metástasis que no ceden al tratamiento y en PIN de alto grado. ⁽⁹⁰⁾

Para realizar la técnica de tinción inmunohistoquímica se debe estandarizar con controles positivos de tejido de bazo donde se expresa el endotelio, ⁽¹⁸⁾ una vez

estandarizada la técnica en los tejidos de próstata el endotelio vascular servirá también como control interno.

La literatura indica que lesiones benignas como: metaplasia, atrofia e hiperplasia no expresan positividad constituyéndose en instrumento útil para el diagnóstico diferencial de lesiones simuladoras de cáncer como la hiperplasia adenomatosa de acinos pequeños, atrofia, etc).⁽¹⁹⁾

Cuando se expresa ERG-TMPRSS2 (TMPRSS2: proteasa transmembrana, serina 2) en tejidos prostáticos con neoplasia intraepitelial, habrá evolución a la invasión.⁽²⁰⁾

Varios autores indican que del 40 al 70% de cánceres prostáticos una fusión de la proteasa transmembrana, serina 2 (TMPRSS2) a la transformación específica eritroblástica (ETS) y el oncogen homólogo del Virus E26 (ERG). Un 10% de carcinomas prostáticos muestran variantes de transformación específica eritroblástica⁽⁹¹⁾. Del 20 al 50% de tumores que no expresan reordenamientos de ETS sobreexpresan la serina inhibidora peptidasa (SPINK 1).⁽⁹²⁾ Un estudio de cohorte sobre fusiones genéticas positivas para ERG observó que el 48,5% de cáncer prostático, 33% de metástasis resistentes al tratamiento y el 19% de PIN mostró su correlación con focos neoplásicos positivos de carcinoma prostático.⁽⁹⁰⁾

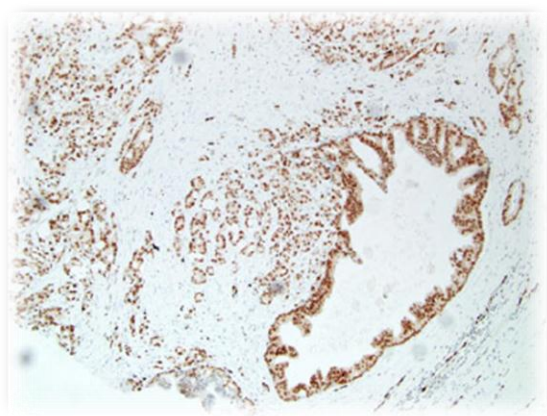
Esqueva y colaboradores demostraron que el cáncer de próstata muestra la unión de subtipos moleculares (TMPRSS2-ERG y SLC45A3-ERG),⁽⁹³⁾ pero esto se produce en unión a otros mediadores, siendo importante diferenciar el cáncer de un PIN.⁽⁹⁴⁾ Barwick y colaboradores (2010) demostraron que cuando hay fusión genética de (TMPRSS2-ERG T1/E4) hay mayor probabilidad de recurrencia del carcinoma prostático.⁽⁹⁵⁾ Si hay expresión de TMPRSS2-ERG el cáncer invadirá tejidos.^{(20) (93) (94)}

Ensayos en el ratón pudieron demostrar que una sobreexpresión de ERG acelera la progresión del PIN de alto grado y acelera la tumorigénesis sin proliferación celular.

(96)

La sobreexpresión de ERG sirve como herramienta diagnóstica para el cáncer prostático. ⁽⁹⁷⁾

Glándula prostática con inmunotinción ERG.



Fuente: Ventana, Roche. Expresión positiva anti ERG para carcinoma prostático

Ventajas y desventajas de los anticuerpos.

Anticuerpo	Ventajas	Desventajas
p63	Tinción menos específica	p63 es aberrante en PCa. Puede ser negativo en mimics
HMWCK	No se difunde aberrantemente HMWCK PCa	Aumento inespecífico. Puede ser negativo en mimics.
HMWCK/p63	Conserva tejido	Tal vez no reconoce al carcinoma aberrante el p63
ERG	Conserva tejido y es más específico	Se produce expresión en paquete, es menor la tinción. Solo el 40% de los cánceres son marcables. La experiencia es limitada con los mimics.

Fuente: Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate.
2014. Am J Surg Pathol.

Anticuerpos usados para determinar origen tumoral primario.

Anticuerpo	Ventajas	Desventajas
p63	97% sensibilidad en metástasis Alta especificidad	Rara vez es positivo en células Gleason 9-10 Disminuye con terapia hormonal salival, adenovesical y puede ser positivo en Melanoma.
ERG	Altamente específico. Es positivo en tumores vasculares, meningiomas y pocos tumores neuroendocrinos	Sensibilidad del 50%

Anticuerpos usados para tumor primario. Fuente: Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate. 2014. Am J Surg Pathol.

En forma similar al anticuerpo dual p63/CK34bE12, el biomarcador ERG puede potencializarse al combinarlo con otros para mejorar la sensibilidad y especificidad por lo que sugieren este procedimiento. ⁽¹⁸⁾ Varios autores presentan una clasificación sobre la expresión de ERG en el tejido, así:

0: cuando no haya expresión

1: tinción débil (observar con lentes de alta resolución)

2: tinción moderada, llamada tinción fuerte

3: fuerte expresión. ⁽⁹⁸⁾

El presente estudio utilizó como control positivo tejido de bazo, y como control interno positivo el endotelio vascular de la próstata.

Van Leenders (2011) indica que hay mayor sensibilidad en tejido obtenido por prostatectomía que en una biopsia, obteniéndose el 52% de sensibilidad en 21 biopsias con carcinoma prostático donde expresaron ERG las células luminales epiteliales. ⁽⁹⁷⁾

2.4. CALIDAD DIAGNÓSTICA

Control de calidad es el conjunto de propiedades, mecanismos, acciones y herramientas que se realiza para detectar errores. En el estudio de muestras de tejido, será procesarlas en forma adecuada, realizar el estudio histopatológico en forma correcta realizando un control de calidad en todas las fases del proceso y finalmente realizar las pruebas de inmunohistoquímica que agregan valor a todo el proceso con el propósito de brindar un diagnóstico exacto y fiable por el bien del paciente.

La calidad de una prueba se denominará a aquella que sea capaz de clasificar correctamente los resultados positivos en las personas enfermas y negativos en las carentes de la enfermedad, y para poder dar validez y seguridad se cuenta con herramientas diagnósticas como: sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos.

Las medidas que se adopten para un control de calidad adecuado deben ser rigurosas, para garantizar el propósito que es brindar un excelente servicio al paciente, así también la integridad de los materiales, reactivos y tejidos utilizados ⁽⁹⁹⁾, puesto que cada año mueren de 44.000 a 98.000 pacientes por errores médicos que pueden ser evitados con estudios más minuciosos. ⁽¹⁰⁰⁾

El control de calidad recomendado en citología, colposcopia y estudios anatomopatológicos indica que el personal que labora en estos servicios debe comprometerse en desarrollar su función en forma responsable, ⁽¹⁰¹⁾ se debe trabajar en equipo, llevar un debido control de calidad que agregue valor de los procesos realizados para corregir errores a tiempo ⁽¹⁰²⁾ y llevar controles preventivos (revisar

calidad de recursos), concurrentes (durante el proceso de muestras) y de retroalimentación (control de calidad del diagnóstico).⁽¹⁰³⁾

Margen de error que se puede presentar en el estudio histopatológico.

Fase	Característica	Margen de error
Pre-pre-analítica	Seleccionar adecuadamente el estudio específico.	12%
Pre-analítica:	Identificar, preparar y transportar la muestra.	2%
Analítica:	Interpretar el estudio.	0.2%
Post-analítica:	Reportar oportunamente el resultado, archivar y almacenar el material.	2.2%
Post-post-analítica:	Actuar en base al resultado.	5%

Control de calidad. **Fuente:** Llanos, V., Vera, D. 2012. Control de calidad en citología, colposcopia y estudios anatomopatológicos.

Para realizar un adecuado control de calidad en todos los procesos que conlleva el estudio histopatológico y obtener resultados de calidad, se debe buscar indicadores que midan la calidad de los servicios brindados al usuario que requiere el estudio histopatológico. Realizar control de calidad post analítica en el estudio histopatológico podría ser la utilización de la IHQ con marcadores tumorales específicos que permitan discernir entre benignidad y malignidad.

Como puede observarse la calidad puede bajar un nivel en cualquier fase del proceso, desde la solicitud de examen hasta quien emita un diagnóstico no esté actualizado con los avances científicos e innovadores.⁽¹⁰¹⁾

La calidad de un estudio puede ser analizado mediante la sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Sensibilidad: es el porcentaje de resultados positivos en pacientes con una enfermedad, es decir emite resultados positivos en pacientes verdaderamente enfermos.

Especificidad: es el porcentaje de resultados negativos en pacientes que no padecen una enfermedad, es decir los resultados son negativos para una enfermedad en personas sanas.

Valor predictivo positivo: es la proporción de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron estar enfermos

Valor predictivo negativo: es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo esté realmente sano. ⁽¹⁰⁴⁾

En el laboratorio existen pruebas de validación de los exámenes realizados, estas pruebas miden si la misma fue realizada de manera adecuada, si cumplió estándares previamente establecidos y si el diagnóstico es preciso. Hay factores que interfieren en el análisis de una prueba y estos pueden darse por errores técnicos en diferentes fases: pre analítica, analítica y post analítica; también tiene relación con el material, instrumentos, reactivos, temperatura, tiempo utilizado, etc al realizar una prueba. ⁽¹¹¹⁾

La validación de estas pruebas es empleada en investigaciones de tipo prospectivo como retrospectivo y recomiendan seguir los protocolos probados y disponibles ⁽¹¹²⁾.

Para el estudio de patología prostática se validó el diagnóstico histopatológico mediante pruebas de inmunohistoquímica.

2.5. JUSTIFICACIÓN

La tasa de prevalencia e incidencia del cáncer de próstata ha aumentado considerablemente en la última década, esto se debe a un mayor grado de certeza diagnóstica gracias a la disponibilidad de nuevas herramientas diagnósticas, tal es el caso de la técnica de inmunohistoquímica y test de biología molecular.

Como todo principio bioético, el médico debe guiar al paciente por el camino correcto para la recuperación de su salud y bienestar; por lo tanto el presente estudio se enfocó en demostrar la utilidad de p63/CK34B12 (Dual) y ERG, como marcadores diagnósticos y pronósticos.

Determinar la utilidad de estas nuevas pruebas diagnósticas permitirá a los médicos patólogos discernir de mejor manera las patologías de carácter benigno y maligno, donde su diagnóstico sea de mayor complejidad, además se intenta probar la utilidad de ambos marcadores tumorales en los casos donde exista lesiones preinvasivas prostáticas en pacientes del HEG.

Al conocer y confirmar los beneficios de la aplicación de la inmunohistoquímica como herramienta diagnóstica útil, se sugiere incorporarla a los protocolos diagnósticos locales y nacionales.

Es la primera vez que se realiza la determinación de ambas tinciones: p63/CK34B12 y de ERG mediante inmunohistoquímica en cortes de tejido en este hospital, con el propósito de evaluar su utilidad diagnóstica y pronóstica en el manejo de patología prostática.

2.6. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Determinar la causa por la que se originan los tumores de próstata hasta hoy ha sido una tarea difícil debido a que varios factores favorecen su desarrollo.

En el mercado existen varias técnicas para el diagnóstico de lesiones sobre todo metastásicas, entre ellas está la prueba del antígeno prostático, la imagenología y aun así continúa siendo mandatorio e insustituible el estudio histopatológico y en los últimos años se está utilizando la inmunohistoquímica para confirmar o descartar lesiones dudosas y malignas.

En este contexto:

¿Se podría mejorar la calidad diagnóstica en las muestras prostáticas sometidas a estudio histopatológico teñidas con Hematoxilina-Eosina mediante la utilización de técnica de inmunohistoquímica con los anticuerpos p63/CK34bE12 (Dual) y ERG para el diagnóstico y pronóstico del cáncer de próstata?

2.7. OBJETIVOS

2.7.1. Objetivo general

- Optimizar el diagnóstico de los diferentes tipos de lesiones prostáticas con marcadores tumorales mediante la utilización de técnicas de inmunohistoquímica.

2.7.2. Objetivos específicos

- Estandarizar el uso de inmunohistoquímica para los anticuerpos p63/CK34bE12 (Dual) y ERG en muestras de próstata.
- Analizar la correlación diagnóstica histopatológica benigna y maligna con los resultados obtenidos en las pruebas de inmunohistoquímica p63/CK34bE12 y ERG.
- Determinar la existencia de ventajas y desventajas de la utilización de marcadores tumorales inmunohistoquímicos p63/CK34bE12 y ERG en el diagnóstico diferencial del carcinoma prostático.

2.8. HIPÓTESIS

Las muestras prostáticas analizadas con Hematoxilina-Eosina, al ser complementadas con la técnica de inmunohistoquímica usando los anticuerpos p63/CK34bE12 (Dual) y ERG nos permitirán optimizar el diagnóstico diferencial con mayor nivel de certeza.

3. CAPÍTULO III – METODOLOGÍA

3.1. TIPO DE PROYECTO

El proyecto que se realizó cumple con características de investigación al cual se le puede adicionar procesos de enseñanza y acción médica, ya que busca obtener información para que posteriormente pueda ser aplicada en programas médicos de intervención oportuna.

3.2. TIPO DE ESTUDIO REALIZADO

La investigación realizada cumple con los parámetros de un estudio retrospectivo, además de poseer características tanto analíticas, como de intervención.

3.3. PERÍODO Y LUGAR DONDE SE LLEVÓ LA INVESTIGACIÓN

En el archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Enrique Garcés perteneciente al Ministerio de Salud Pública (HEG - MSP) se revisó todos los bloques de tejidos, laminillas e informes histopatológicos de próstata estudiados en el período comprendido entre enero 2012 a agosto del 2014.

3.4. UNIVERSO Y MUESTRA

El universo del presente estudio estuvo constituido por la totalidad de 220 muestras prostáticas con diagnóstico histopatológico previo que se obtuvo en el Servicio de

Anatomía Patológica del Hospital Enrique Garcés comprendido en el período de enero 2012 a agosto 2014.

Conforme al tamaño muestral obtenido, se seleccionó de forma aleatoria simple el número correspondiente de bloques de parafina con tejido prostático para proceder con la técnica de IHQ con los anticuerpos p63/CK34bE12 (Dual) y ERG, siempre que cumplieron los criterios de inclusión-exclusión.

✓ **Criterios de inclusión:**

- Pacientes varones mayores de 45 años.
- Pacientes con estudio histopatológico de próstata en el periodo comprendido enero 2012 y agosto 2014.
- Pacientes con diagnóstico histopatológico e informe escrito.
- Buena preservación del tejido seleccionado.

✓ **Criterios de exclusión:**

- Muestras sin diagnóstico histopatológico de próstata.
- Mala preservación del tejido.

El cálculo del tamaño muestral se realizó en base a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 * (p) * (1-p)}{e^2}$$

Dónde:

n: Muestra

Z: Constante de intervalo de confianza (95%) = 1.96

p: Probabilidad de ocurrencia de cáncer prostático = 0.22 ⁽³⁾

e: Error de Inferencia (10%) = 0.1

N: Población total = 220

Reemplazando:

$$n = \frac{1.96^2 * (0.22) * (1-0.22)}{0.1^2}$$

$$n = 65.9$$

n^l = Rectificación del tamaño de la muestra:

$$n^l = \frac{n}{1 + n / N}$$

$$n^l = \frac{65.9}{1 + (65.9/220)}$$

$$n^l = 50.71$$

La muestra comprendió 50 casos, de los cuales ingresaron al estudio lesiones benignas y malignas seleccionadas mediante el método aleatorio simple para determinar si son verdaderamente negativas y positivas.

3.5. MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRA

Para realizar el estudio se revisó los registros y archivos de bloques y laminillas de muestras histopatológicas del Servicio de Anatomía Patológica del HEG, con el propósito de seleccionar los correspondientes a próstata con diagnósticos benignos y malignos que ingresaron de enero 2012 a agosto 2014.

De los bloques de parafina con tejido seleccionados, se realizó 2 cortes en el micrótopo a 4 μ m, los mismos que se depositó en lámina portaobjetos con carga positiva, se desparafinizó, después se rehidrató, se realizó la recuperación de antígenos y posteriormente se aplicó los anticuerpos p63/CK34bE12 (Dual) y ERG, con Kits de reactivos de la casa comercial Roche (Ventana) de alta calidad aprobados por la FDA.

Una vez concluidas las técnicas de Inmunohistoquímica se evaluó el grado de expresividad presente o ausente, en cada laminilla, con la supervisión del Jefe del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Enrique Garcés – MSP.

Finalmente se determinó la utilidad de los marcadores tumorales en los diagnósticos por estudio histopatológico emitido en las muestras de estudio.

3.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
Método diagnóstico: Hematoxilina Eosina Variable Independiente	Identificación de características morfológicas en el tejido teñido con la técnica Hematoxilina Eosina	Invasión (si/no) Anaplasia (leve, moderada, severa) Arquitectura (tubular, papilar, acinar, folicular, sólida, mixta) Mitosis atípicas (si/no). Nucléolo: (inconspicuo, prominente). Necrosis (si/no)	Porcentaje: Hiperplasia prostática benigna y Cáncer de próstata.	Presente/ausente
Utilidad de los marcadores tumorales Variable dependiente	Es la capacidad de la prueba para determinar y clasificar correctamente los resultados positivos en las personas enfermas y resultados negativos en personas carentes de la enfermedad.	Enfermedad presente detectada por la prueba. Enfermedad presente no detectada por la prueba	Porcentaje de enfermedades detectadas y no detectadas	Presente/ausente
IHQ de los anticuerpos: p63/CK34bE12 (Dual), y ERG Variable Interviniente	Expresión de marcadores tumorales en tejidos sometidos a técnica de inmunohistoquímica	Inmunoreactividad: Con expresión en el tejido sometido a estudio.	Porcentaje de expresión baja, moderada o intensa de los marcadores en el tejido	Negativo/positivo
Buena preservación de antígenos en muestras histopatológicas Variable Perturbadora	Tejido bien tratado, fijado y procesado: Preserva la morfología celular, preserva e inmoviliza el antígeno, preserva la inmunoreactividad del antígeno y permite el ingreso de reactivos inmunoquímicos al tejido	Muestras fijadas adecuadamente Muestras no fijadas adecuadamente	Reacción positiva del antígeno del tejido frente al anticuerpo buscado	Presente/ausente
Edad Variable de control	Tiempo transcurrido desde el nacimiento	Edad cronológica	Años cumplidos	Numérica

3.7. NOMENCLATURA

AP: adenocarcinoma de próstata

CK34bE12: citoqueratina de alto peso molecular

CP: cáncer de próstata

ERG: oncogen homólogo del virus E26

HPB: hiperplasia prostática benigna

IHQ: inmunohistoquímica

p63: proteína 63 de la glándula prostática presente en células basales.

3.8. MÉTODO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez registrados los resultados, los datos de los pacientes correspondientes a edad, resultado histopatológico (HPB y CP) y los resultados de las dos pruebas inmunohistoquímicas (+/-), fueron ingresados en el programa estadístico SPSS22. En base a esta matriz de datos se generaron tablas de frecuencias para poder evaluar porcentualmente, así como en valores absolutos las variables mencionadas anteriormente. Además, se generó tablas de contingencia (2x2) que permitieron identificar si las variables ubicadas en cada uno de los planos eran independientes o no. Para esto se utilizó la prueba exacta de Fisher, ya que se obtuvieron casillas con valores menores a 5 y el coeficiente de contingencia, el cual permitió determinar la

asociación de las variables mencionadas. En todas las pruebas mencionadas se trabajó con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$).

3.9. ASPECTOS BIOÉTICOS

Se realizó los trámites pertinentes para obtener los permisos respectivos de los servicios para la recolección de datos en el Hospital Enrique Garcés – Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

Durante todo el proceso de investigación se guardó absoluta confidencialidad de los datos obtenidos como se indica en el tratado de Helsinki.

Al tratarse de un estudio retrospectivo no se considera esencial el obtener un consentimiento informado por parte de los pacientes, ya que este tipo de investigaciones es de carácter observacional y su análisis se efectuará mediante datos obtenidos en historias clínicas. La identidad de los pacientes será llevada mediante códigos numéricos que permiten guardar la identidad y confidencialidad de los pacientes.

3.10. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

Recursos utilizados:

- Recursos del Hospital:

- Historias clínicas de cada uno de los pacientes con diagnóstico histopatológico de hiperplasia prostática benigna y adenocarcinoma acinar comprendidos en el período Enero 2012 – Agosto 2014.
- Placas con tinción de hematoxilina – eosina de los casos clínicos previamente seleccionados para este estudio.
- Bloques de parafina correspondientes a los casos clínicos seleccionados para el análisis inmunohistoquímico.
- Microscopios del Servicio de Anatomía Patológica del HEG – MSP.
- Micrótopo del Servicio de Anatomía Patológica del HEG – MSP.
- Baño de flotación del Servicio de Anatomía Patológica del HEG – MSP.
- Equipo de inmunotinción del Servicio de Anatomía Patológica del HEG – MSP.
- Recursos materiales: materiales de oficina
- Reactivos para Inmunohistoquímica.
- Presupuesto: El estudio fue autofinanciado por el autor

4. CAPÍTULO IV– RESULTADOS

El presente estudio estuvo constituido por una población de 220 muestras de tejido prostático con diagnóstico histopatológico previo y se trabajó con una muestra de 50 casos, 46 de ellos correspondieron a prostatectomías radicales y 4 a biopsias a las que se realizó la técnica de inmunohistoquímica de p63/CK34bE12 (Dual) y ERG, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 1. Estadísticos descriptivos

		Edad	DUAL	ERG	Diagnóstico histopatológico
N	Válido	50	50	50	50
	Perdidos	0	0	0	0
Moda		3	1	0	1

Se obtuvo el total de los casos correspondientes al tamaño muestral con sus respectivas variables edad, pruebas diagnósticas Dual, ERG y el diagnóstico histopatológico; se obtuvo la moda de 3, 1, 0 y 1, respectivamente.

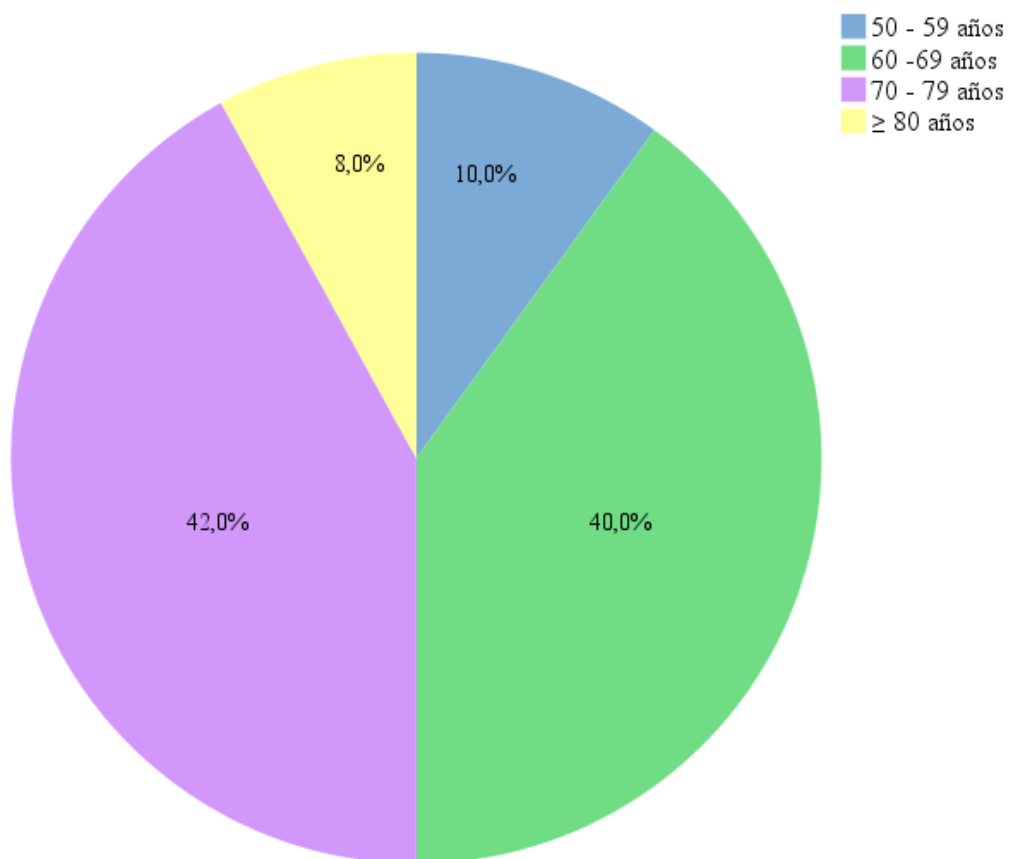


Figura 1. Porcentajes obtenidos para la variable edad agrupada en cuatro intervalos.

La edad se agrupó en 4 intervalos donde el 42% corresponde al grupo comprendido entre 70 a 79 años, el 40% al de 60-69 años, seguido del 10% con la edad mayor a 80 años y finalmente el 8% del grupo comprendido entre los 50 y 59 años.

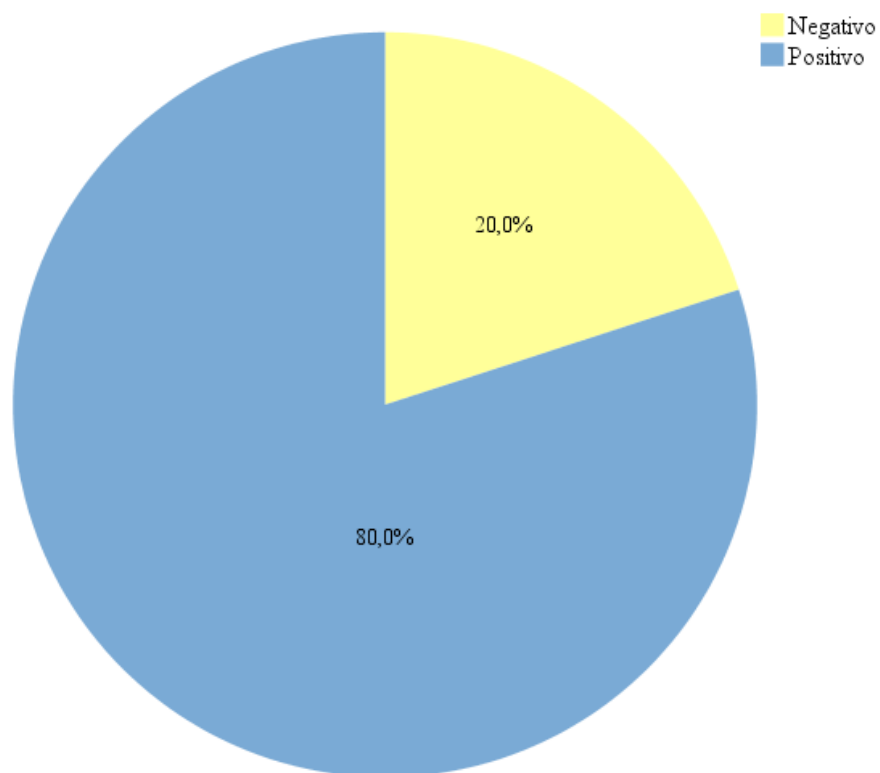


Figura 2. Porcentajes obtenidos para la variable tinción del marcador Dual en tejidos de lesiones prostáticas.

El empleo del marcador Dual expresó en el 80% del total de casos (40), mientras que el 20% restante no lo marcó con la tinción de inmunohistoquímica aplicada.

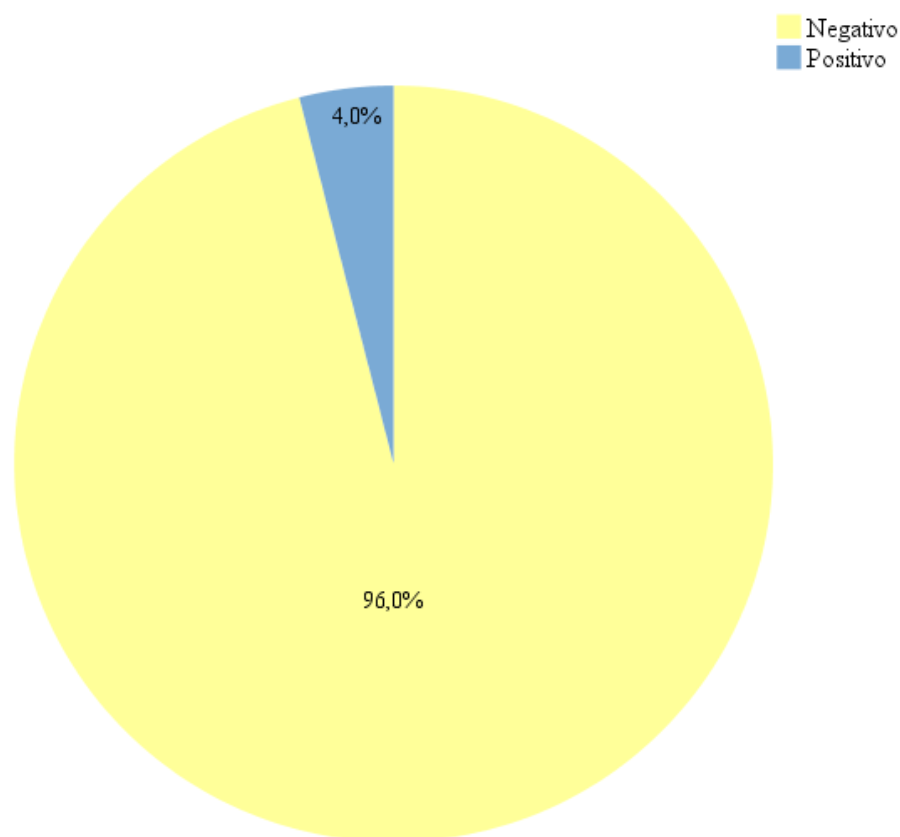


Figura 3. Porcentajes obtenidos para la variable tinción del marcador tumoral ERG en tejidos de lesiones prostáticas.

El empleo del marcador tumoral ERG expresó el 4% del total de casos (4), mientras que el 96% restante no lo marcó con la tinción de inmunohistoquímica aplicada.

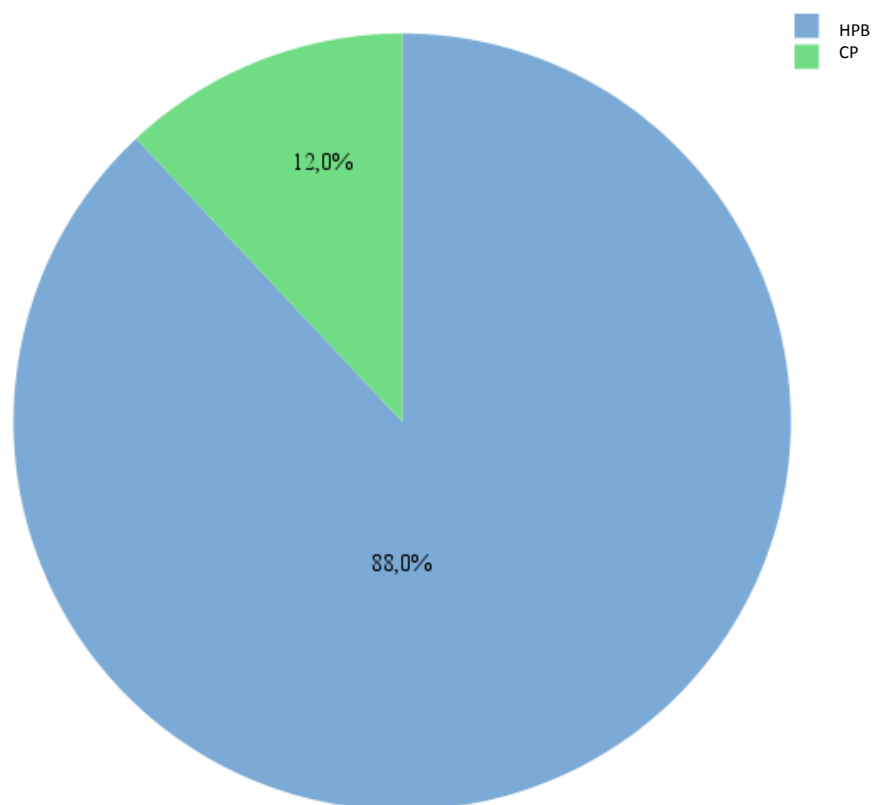


Figura 4. Porcentaje obtenidos para la variable diagnóstico histopatológico de lesiones benignas y malignas.

El 88% de los 50 casos que se aplicó la investigación poseía diagnóstico previo de HPB, mientras que el 12% correspondió al CP.

Tabla 2. Tabla de contingencia entre las variables marcador Dual y diagnóstico histopatológico

			Basal (p63/CK34bE12)		Total
			Negativo	Positivo	
Diagnóstico Histopatológico	HPB	Recuento	4	40	44
		Recuento esperado	8,8	35,2	44,0
	CP	Recuento	6	0	6
		Recuento esperado	1,2	4,8	6,0
Total		Recuento	10	40	50
		Recuento esperado	10,0	40,0	50,0

Tabla 3. Resumen del análisis del X^2 , entre las variables marcador Dual y diagnóstico histopatológico.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	27,273 ^a	1	,000	,000	,000
Corrección de continuidad ^b	21,887	1	,000		
Razón de verosimilitud	23,232	1	,000		
Prueba exacta de Fisher					
N de casos válidos	50				

a. 2 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1,20.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Tabla 4. Medida de asociación simétrica entre el marcador Dual y diagnóstico histopatológico.

		Valor	Aprox. Sig.
Nominal por Nominal	Coefficiente de contingencia	,594	,000
N de casos válidos		50	

Tabla 5. Tabla de contingencia entre las variables marcador tumoral ERG y diagnóstico histopatológico.

			ERG		Total
			Negativo	Positivo	
Diagnóstico HP	HPB	Recuento	44	0	44
		Recuento esperado	42,2	1,8	44,0
	CP	Recuento	4	2	6
		Recuento esperado	5,8	,2	6,0
Total		Recuento	48	2	50
		Recuento esperado	48,0	2,0	50,0

Tabla 6. Resumen del análisis del X^2 entre las variables marcador tumoral ERG y diagnóstico histopatológico.

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	15,278 ^a	1	,000	,012	,012
Corrección de continuidad ^b	7,830	1	,005		
Razón de verosimilitud	9,156	1	,002		
Prueba exacta de Fisher					
N de casos válidos	50				

a. 2 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,24.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

Tabla 7. Medida de asociación simétrica entre las variables marcador tumoral ERG y diagnóstico histopatológico.

		Valor	Aprox. Sig.
Nominal por Nominal	Coeficiente de contingencia	,484	,000
N de casos válidos		50	

5. CAPÍTULO V– DISCUSIÓN

El CDC refiere que en el período comprendido desde 1999 al 2011, la incidencia de cáncer prostático fue mucho más alta en personas de etnia negra, seguido de la etnia blanca, hispanos y los nativos de las islas del pacífico. ⁽¹⁰⁵⁾En nuestro país la etnia mayoritaria es la mestiza en un 65%, seguido de la indígena con el 25%, blancos 7% y etnia negra en un 3%, a pesar de ello la tasa de incidencia que muestra el cáncer de próstata es del 29.8%, siendo la más alta en comparación a otros tipos de cáncer. ⁽³⁾

⁽¹⁰⁶⁾

Según el informe español “Globocan” en el año 2012, la tasa de incidencia del carcinoma prostático fue de 215/100.000 por año y el riesgo por presentar cáncer antes de los 75 años fue del 25,1%. ⁽²⁸⁾ Los datos obtenidos en la presente investigación corroboran dicha cifra siendo mayor la probabilidad de padecer el cáncer si la edad es superior a los 65 años.

Castiñeiras y colaboradores reportan que la hiperplasia prostática benigna posee una alta prevalencia a partir de los 50 años de edad, ⁽¹⁰⁷⁾en la investigación se encontró una moda para el intervalo 3 que corresponde 70 – 79 años.

En referencia al tipo de neoplasia histológica encontrada, un alto porcentaje de casos correspondió a hiperplasias prostáticas (HPB), datos que corroboran a estudios realizados por Rubistein y colaboradores. ⁽⁴⁴⁾

En el análisis del diagnóstico histológico, se observó la presencia de adenocarcinoma de próstata (CP) en todas las muestras seleccionadas al azar positivas que ingresaron

al estudio, confirmándose datos publicados que indican que más del 95% de cánceres primarios corresponden al adenocarcinoma de próstata.⁽⁸⁵⁾

El estudio histopatológico de muestras prostáticas en los último años ha sido favorecido gracias a la utilización de marcadores tumorales específicos detectados por inmunohistoquímica, coadyuvando en diagnósticos histopatológicos difíciles o que causen duda para ser despejados y emitidos con mayor seguridad y validez. La presente investigación realizó la inmunotinción de p63/CK34bE12 que detecta células basales en lesiones benignas y ERG que se expresa en células malignas prostáticas. Los resultados obtenidos permitieron confirmar lo antes mencionado, siendo así que se encontraron dos casos diagnosticados como hiperplasia prostática benigna que resultaron ser adenocarcinomas de próstata.

Otros estudios indican que tumores de próstata con células que tienen alto peso molecular pueden dar resultados falsos negativos.⁽¹⁰⁸⁾ Shah y colaboradores encontraron la expresión de p63 en tumores de próstata con células que presentaron un alto peso molecular, demostrando así la alta especificidad de este marcador, sin contrastar las células secretoras,⁽¹⁰⁹⁾ es decir no se expresarán las células de adenocarcinoma.

La tinción mediante inmunohistoquímica utilizando el marcador p63/CK34bE12 (Dual) fue muy efectiva para identificar lesiones benignas y no se encontró resultados falsos positivos, pudiendo evidenciarse que esta asociación de marcadores es altamente específico para lesiones hiperplásicas benignas.^{(73) (84)}

La expresión del marcador p63/CK34bE12 (Dual) fue del 80% del total de las muestras, este resultado se asocia estadísticamente a las muestras histopatológicas con lesión benigna, corroborando con la alta sensibilidad y especificidad de este marcador en otros estudios, esto muestra una estrecha asociación del marcador dual con la presencia de células basales en células normales con lesiones benignas y su ausencia en lesiones malignas.⁽⁷⁷⁾ Su correlación es estadísticamente significativa frente a hiperplasias nodulares (Tablas 2 - 4).

La expresión del marcador tumoral ERG frente a lesiones prostáticas fue del 4% del total de las muestras positivas para adenocarcinoma de próstata y el control positivo interno de los casos que no expresaron tumor confirma que la técnica fue realizada de manera correcta, mostrando positividad en el endotelio vascular, confirmando el estudio realizado en la Universidad de Seúl que ratifica a ERG como un marcador altamente específico endotelial,⁽⁸⁹⁾ y el ERG truncado presente en el adenocarcinoma de próstata.⁽¹⁸⁾

La sensibilidad de este marcador también se incrementa en tejidos obtenidos por prostatectomía, y baja su sensibilidad en biopsias⁽⁹⁷⁾ los casos seleccionados en el estudio fueron mayoritariamente producto de prostatectomías (92% de casos).

6. CAPÍTULO VI – CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

- Los marcadores estudiados fueron determinados empleando las recomendaciones del fabricante, mediante el uso de controles positivos y negativos, así también se rigió a los patrones de control interno respectivamente para cada prueba, basados en la experiencia de otros autores, por lo tanto el control interno positivo de ERG que es el endotelio mostró expresión en los todos los adenocarcinomas realizados inclusive en los que no expresaron, lo que valida a la técnica realizada.
- Las lesiones de próstata benignas y malignas encontradas en el estudio histopatológico presentaron un mayor porcentaje de hiperplasias frente al cáncer de próstata (adenocarcinoma). Los rangos epidemiológicos malignos muestran que las lesiones histológicas malignas (adenocarcinoma de próstata) son directamente proporcionales a padecerlas si la edad del paciente aumenta.
- La presencia de hiperplasias benignas se encuentra en pacientes de riesgo de desarrollar carcinoma prostático, por lo que es imperioso tratar de detectarla entre 50 y 60 años de edad para evitar su malignización.
- El marcador p63/CK34bE12 (Dual), tanto en el estudio global como lesión benigna presentó una alta correlación con el diagnóstico histopatológico,

demonstrando así que este tipo de marcador tumoral podría presentar una alta sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo.

- El marcador tumoral ERG en el estudio presentó un bajo porcentaje de expresión, lo cual fue reflejado en la baja correlación con los resultados histopatológicos. Esto puede deberse al bajo número de muestras estudiadas con diagnóstico histopatológico de cáncer de próstata (adenocarcinoma) y no a la preservación inadecuada de los tejidos, puesto que el control interno de los mismos expresó positividad lo que validó la técnica realizada.
- La diferencia en el grado de expresión entre el marcador Dual y ERG, permite afirmar que p63/CK34bE12 es mucho más intensa y permite discernir un diagnóstico con mayor certeza y juicio clínico para el médico patólogo, inclusive la utilidad del marcador Dual utilizado sirve para realizar diagnósticos diferenciales en lesiones benignas que simulan malignidad.
- La utilización de la técnica de inmunohistoquímica en los laboratorios de Anatomía Patológica en el Hospital Enrique Garcés en referencia a la patología prostática fue de utilidad, debido a que aporta valor y calidad diagnóstica.

6.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la utilización del marcador p63+CK34bE12 mediante la técnica de inmunohistoquímica debido a que presenta una estrecha asociación entre hiperplasia prostática benigna con su expresión nuclear y citoplasmática en el marcaje de la totalidad glandular de las muestras y permite dilucidar el diagnóstico de lesiones que simulan malignidad y en muestras que causen duda diagnóstica por histopatología con Hematoxilina-Eosina.
- Se recomienda aumentar el número de muestras en futuras investigaciones para así poder determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos mediante la prueba de inmunohistoquímica de ERG.
- Se recomienda que el médico patólogo realice el diagnóstico de cáncer de próstata utilizando técnicas de inmunohistoquímica que agregan valor al resultado emitido y permitirán al médico oncólogo tomar medidas de tratamiento más correctas.
- Se recomienda que las autoridades del Hospital Enrique Garcés gestionen la compra de marcadores tumorales específicos aprobados para mantener y sustentar la utilización de la inmunohistoquímica que ayuda al discernimiento correcto de la patología prostática.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Perner, S., Mosquera, JM., Demichelis, F., et al.** (2007) American Journal of Surgical Pathology. *TMPRSS2-ERG Fusion Prostate Cancer: An Early Molecular Event Associated With Invasion.* s.l. : Lippincott Williams & Wilkins, Inc. Journal of Pathology, 2007. Vols. 31 Issue 6 - pp 882-888.
2. **American, Cancer Society.** (2010) *Cancer Facts and Figures.* Winship Cancer Institut. En línea: <http://www.cancerquest.org/es/prostate-cancer-introduction.html>.
3. **Cueva, P., Yépez, J.** (2011). *Epidemiología del cáncer en Quito.* SOLCA.
4. **Salud** (2011) El cáncer de estómago afecta a más hombres que mujeres en el Ecuador. *Periódico del Ministerio de Salud del Ecuador.* [Citado el: 17 de Septiembre de 2014.]
5. **Heidenreich, A., Bolla, M., Joniau, S. et al.** (2010). *Guía clínica sobre el cáncer de próstata.* European Association of Urology.
6. **Azúa, G., Sancho, X., Duarte, M., et al.** (2011). *Guía de Atención del Cáncer de Próstata. I nivel de atención.* Seguro Social Costa Rica. En línea: <http://www.binasss.sa.cr/guiafinal.pdf>.
7. **Heidenreich, A., Bellmunt, J., Bolla, M., et al.** (2011) *Guía de la EAU sobre el cáncer de próstata. Parte I: cribado, diagnóstico y tratamiento del cáncer clínicamente localizado.* Actas Urológicas Españolas. En línea: www.elsevier.es/actasuro
8. **MSP, Chile.** (2010) *Series Guías clínicas MINSAL.* [En línea]. [Citado el: 16 de Septiembre de 2014.] www.minsal.cl.
9. **Kumar, V., Pritzker, DN., Abbas AK., C.Aster, J.** (2012). *Patología de Robbins.* Madrid. Elsevier.
10. **American, Cancer Society.** (2015). Copyright American Cancer Society En línea: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002319-pdf.pdf>
11. **Ávila, P., Campos, A., Huerta, J., et al.** (2009) *Guía de práctica clínica Mexicana. Diagnóstico y tratamiento del cáncer de próstata en el Segundo y tercer Nivel de atención.* En línea: <http://www.cenetec.salud.gob.mx/>

12. **Scott, M.** (2013). *PSA testing for the pretreatment staging and posttreatment management of prostate cancer*. MedlinePlus. American Urological Association Education and Research, Inc.
13. **Urbano, A., Ferrández, A.** (2011) *Carcinoma no microcítico de pulmón. Correlación morfológica e inmunohistoquímica en biopsias broncoendoscópicas y biopsias de pieza de resección quirúrgica*. Zaragoza, España : s.n..
14. **Molinie, V., Baumert, H.** (2007) *Actas Urológicas Españolas*. 9., Madrid : ISSN 0210-4806, Actas Urol Esp v.31 n.9 Madrid oct. 2007 de Octubre de 2007, Vol. 31
15. **Jorge, BD., Romo, AC., Valenzuela, TJ., Zarate, OA.** (2008). <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1220679965.pdf>. [En línea] [Citado el: 16 de 09 de 2014.]
16. **Shah, R., Zhou, M., LeBlamnc M., et al.** (2009). *Comparison of the basal cell-specific markers, 34betaE12 and p63, in the diagnosis of prostate cancer*. [aut. libro] Dabbs David. *Diagnostic Immunohistochemistry*. Philadelphia: Saunders. Elsevier.
17. **Weinstein, MH., Signoretti, S., Loda, M.** (2009). *Diagnostic utility of immunohistochemical staining for p63, a sensitive marker of prostatic basal cells*. [aut. libro] Dabbs David. *Diagnostic Immunohistochemistry*. Philadelphia: Saunders. Elsevier.
18. **Ventana, Medical Systems, Inc.** (2014). *Anti-ERG (EPR3864) Rabbit Monoclonal Primary Antibody*. Roche – Ecuador. En línea: [https://pim-eservices.roche.com/eLD/\(S\(wezhfdv45cv0vswddkdr0dje\)\)/ru/es/Documents/GetDocument?documentId=e93b6eeb-37f5-e311-98a1-00215a9b0ba8](https://pim-eservices.roche.com/eLD/(S(wezhfdv45cv0vswddkdr0dje))/ru/es/Documents/GetDocument?documentId=e93b6eeb-37f5-e311-98a1-00215a9b0ba8)
19. **Rodón, N., Verdú, M., Pubill, C., et al.** (2013). *Expresión fr ERG y AMACR en 160 carcinomas de próstata y 270 carcinomas de distinto origen primario*. Granada : (Poster Virtual) Asociación Española de Urología.
20. **Mosquera, JM., Perner, S., Genega, EM., et al.** (2014) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18519767/>. [En línea] NCBI, 1 de junio de 2008. [Citado el: 27 de Octubre de 2014.]
21. **Ro, JY., Shen, SS., Zhai, KJ., Ayala, AG.** (2012). *Advances in Surgical Pathology Prostate Cancer*. s.l.: Lippincott Williams & Wilkins.

22. **Vanaja, DK.**, Cheville, JC., Iturria, SJ., Young CY. (2003) Markers positively expressed in prostate adenocarcinoma cells. [aut. libro] SS., Zhai, QJ., Ayala, AG. Shen. *Advances in Surgical Pathology: Prostate Cancer. Transcriptional silencing of zinc finger protein 185 identified by expression profiling is associated with prostate cancer progression. Cancer Res.*2003;63: 3877–3882 : Lippincott Williams & Wilkins.
23. **Torres, I.** (2006) *Últimos avances anatomopatológicos en el diagnóstico y pronóstico de cáncer de próstata.* [En línea]. [Citado el: 17 de Septiembre de 2014.] <http://scielo.isciii.es/pdf/urol/v59n10/original15.pdf>
24. **Sanz, PN.** (2012) *Avances en Patología Pulmonar/Manejo del cáncer de pulmón no microcítico.* Madrid : USCAP & AACR.
25. **Vaquero, M.** (2007). *Manual de Inmunohistoquímica en Anatomía Patológica.* S.l.: Servicio de Anatomía Patológica-Hospital Donostia.
26. **Buys, D.,** Romo, C., Valenzuela., et al. (2008) *Cancerología. Evaluación por inmunohistoquímica de foco microscópico sospechoso de adenocarcinoma en biopsias de próstata en 261 casos.* [En línea] [Citado el: 17 de Septiembre de 2014.]<http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1220679965.pdf>
27. **Cáncer,** Instituto Nacional. (2014) Citado el 25 de septiembre. En línea: <http://www.cancer.gov/espanol/pdq/tratamiento/prostata/Patient/page1>
28. **AECC.** (2012). Asociación Española contra el cáncer. En línea: <https://www.aecc.es/SOBREELCANCER/CANCERPORLOCALIZACION/CANCERDEPROSTATA/Paginas/anatomia.aspx>
29. **Cotran, RS.,** Kumar, V., Collins, T. (1999)*Patología Estructural y Funcional.* Madrid : McGraw-Hill. Interamericana, 1999. Sexta edición. p. 1069.
30. **Tanagho, EA.,** McAninch, JW. (2001)*Urología General de Smith.* México : El Manual Moderno S.A.
31. **Latarjet, M.,** Ruiz, A.(2008)*Anatomía Humana / Próstata y glándulas bulbouretrales.* Buenos Aires - Argentina : Editorial Médica Panamericana S.A., 2008. Tomo 2. 4º edición.

32. **Hinostroza,** J. (2006). En línea:
escuela.med.puc.cl/publ/anatomiapatologica/05Genital.../5prostata.html.
33. **CTO.** (2013.)*Manual CTO, Nefrourología, Ecuador.* Madrid : CTO Editorial, 1º edición.
34. **Last.** (2003)*Anatomia de Last Regional y aplicada.* Barcelona - España : Editorial Paidotribo. Primera Edición.
35. **Carballo,** M. (2012) *Anatomia y Fisiologia de la Próstata.* Coruña : Sociedad Gallega de Urología.
36. **Rouviere.** (2001)*Compendio de anatomía y disección.* Barcelona-España : Masson S.A., Tercera edición.
37. **Hermabessière,** J., Taillandier, J. (1993) *Physiologie de la prostate. EncyclMédChir* (Editions ScientifiquesetMédicales Elsevier SAS, Paris, tousdroitsréservés), Néphrologie - Urologie, 18-500-B-10, 1993, 6 p.
38. **Rosemberg,** H. *Patología de la próstata.* Lecciones de Anatomía patológica. Chile. Capítulo 5.
39. **Babinski,** M., Chagas, M., Costa, W., et al. (2002) *Morfología y fracción del área del lumen glandular de transición en la próstata humana.* Rev. Chil. Anat., 20(3):255-262.
40. **Reyes,** E. (2013). *Hiperplasia Prostática Benigna.* Costa Rica : Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica LXX. Volumen 606, pag 269-272.
41. **Maya,** R., Ileana, B., Senia, Bermudez., et al. (2007).*Patologías benignas de la próstata: prostatitis e hiperplasia benigna.* Número 1, Cuba : Revista Biomed, Volumen 18
42. **Agirrezabala,** (2012) J., Aizpurua, I., Albizuri, M., et al. Manejo de la Hiperplasia Benigna de Próstata. *INFAC.* Volumen 20, Número 3.
43. **Roehrborn,** CG. (2011). *Male lower urinary tract symptoms (LUTS) and benign prostatic hyperplasia (BPH).* PUBMED. Med Clin North Am. 95 (1):87-100
44. **Rubinstein,** E., Gueglio, G., Giudice, C., et al. (2013). *Actualización: Hiperplasia prostatica benigna.* Volumen 16, Número 4; pag: 143-151. Buenos Aires

45. **Miñana, B.**, Rodríguez-Antolín A., Prieto, M., et al. (2013). *Perfiles de severidad en pacientes diagnosticados de hiperplasia benigna prostática en España*. Asociación española de urología. Madrid. Vol. 37. pag: 544-548
46. **Villavicencio, H.** (2012). *La hiperplasia benigna de próstata afecta a la mitad de los varones mayores de 50 años*. Madrid : Asociación Española de Urología.
47. **Scott, M.**, Zieve, D., Black, B., et al. (2011). *Enlarged prostate*. Centro médico de la Universidad de Maryland. ADAM editorial.
48. **Antúnez, MP.**, Herrero, B., Santos, TA., et al. (2011). *Hiperplasia benigna de próstata con metaplasia estromal fibroadiposa*. Madrid. Actas urológicas españolas. Volumen 35.
49. **Gaudin, PB.**, Epstein, JI. (1995). *Adenosis of the prostate. Histologic features in needle biopsy specimens*. Am J Surg Pathol, Vol. 19:737
50. **Bostwick, DG.**, Amin, MB., Dundore, P., et al. (1993). *Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia*. Hum Pathol., Vol. 24:298.
51. **García, G.**, Moreno, JA., Algaba, F., et al. (2004). *Cáncer de próstata, una guía práctica*. Asociación Española contra el cáncer.
52. **González, A.** (2014). Sociedad española de oncología médica. Madrid. *SEOM. En línea:* <http://www.seom.org/en/informacion-sobre-el-cancer/info-tipos-cancer/genitourinario/prostata?start=5>.
53. **Nelen, V.** (2007). *Epidemiology of prostate cancer*. PubMed indexed for Medline.
54. **Fundación**, contra el cáncer. (2014). *Cáncer de próstata: una guía para pacientes. Basada en la Guía de Práctica Clínica de la ESMO. European Society for Medical System*.
55. **DMedicina.** (2009). *Diario Médico: Cáncer de próstata*. En línea: <http://www.dmedicina.com/enfermedades/cancer/cancer-prostata>.
56. **Castro, E.**, Goh, C., Olmos, D., et al. (2013). *Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis and poor survival outcomes in prostate cancer*. Madrid. Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas Carlos III.

57. **Kumar, V.**, Abbas, A., Fausto, N., Aster, J. (2010). *Patología estructural y funcional*. Barcelona : Elsevier. Octava edición.
58. **Hemminki, K.**, Rawal, R., Bermejo, JL. (2005). *Prostate cancer screening, changing age-specific incidence trends and implications on familial risk*. Int J Cancer. Vol 10; 113(2):312-5.
59. **Cáncer**, Instituto Nacional. (2014). En línea: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/genetics/prostate/HealthProfessional/page1>
60. **Gronberg, H.**, Damber, L., Damber, JE.(1996). *Familial prostate cancer in Sweden: a nationwide register cohort study*. Vol. 77: pag: 138-143.
61. **Mostofy, FK**, et al. (1992). *Patología del cáncer de próstata*. Robbins. *Patología estructural y funcional*.
62. **Zelevsky, MJ.**, Eastharn, JA., Sertor, AO. (2011). *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. . , Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2011, Vol. 9th ed.
63. **DeVita, VT. Jr.**, Lawrence, TS., Rosenberg, (2011). *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2011, Vols. 9th ed. pp 1220-71.
64. **Scott, M.**, Zieve, D., Black, B., et al. (2011). *Enlarged prostate*. Centro médico de la Universidad de Maryland. ADAM editorial.
65. **Argentina, Consenso Nacional**. (2014) *Consenso Nacional Inter-Sociedades para el diagnóstico y tratamiento de cáncer de próstata*. Buenos Aires – Argentina. Programa Nacional de Consensos Inter-Sociedades. Programa Argentino de Consensos de Enfermedades Oncológicas.
66. **Eble, JN**. (2004). *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. Lyon. World Health Organization Classification of Tumours-OMS.
67. **Zollo, AJ**. (2006). *Medicina Interna. Secretos*. Madrid : Elsevier. 4ª edición.
68. **Chan, TY.**, Partin, AW., Walsh, PC., et al. (2000). *Prognostic significance of Gleason score 3+4 versus Gleason score 4+3 tumor at radical prostatectomy*. Pub Med indexed Medline. Vol. 56. US National Library of Medicine National Institutes of Health.

69. **Coordinación**, de innovación educativa. (2008) Tinción y montaje. Michuacan – México. En línea: http://dieumsnh.qfb.umich.mx/patologia_pract/practica_6.htm
70. **Coons**, AH., Creech HJ., Jones RN. (2010) *Techniques of Immunohistochemistry: Principles Pitfalls, and Standarization*. [aut. libro] David J. Dabbs. *Diagnostic Immunohistochemistry*. Philadelphia : Saunders. Elsevier.
71. **Bishop**, PW. (2012). *An immunohistochemical vademecum*. En línea: http://e-immunohistochemistry.info/web/histopathology_help.htm.%20An%20immunohistochemical%20vade%20mecum
72. **Ventana**, Medical Systems, Inc.(2010). *Basal Cell Cocktail (34 β E12+p63)*. En línea: <http://www.ventana.com/product/1532?type=1992>
73. **Netto**, G., Epstein, J. (2009). *Immunohistology of the Prostate, Bladder, Kitney, and Testis*. Philadelphia : Saunders – Elsevier
74. **Signoretti**, S., Waltergny, D., Dilks, J., et al. (2009). *P63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development*. [aut. libro] Dabbs David. *DiagnosticImmunohistochemistry*. Philadelphia: Saunders. Elsevier.
75. **Bishop**, P. (2012). *Tissue microarray technology*. An immunohistochemical vademécum. Manchester. UK. En línea: http://e-immunohistochemistry.info/web/histopathology_help.htm
76. **Gown**, A., Yaziji, H. (2000). *Detection of stromal invasión in Breast Cancer: The myoepithelial markers*. Advances in Anatomic Pathology Volumen: 7 (2): pag:100-109.
77. **Kalantari**, M., Anvari, K., Jabbari, H., et al.(2014). *p63 is more sensitive and specific than 34 β E12 to differentiate adenocarcinoma of prostate from cancer mimickers*. Iranian Journal of basic medical sciences. *NCBI*.
78. **Ming**, Z., Rajal, S., Ronglai, S., et al. (2003). *Basal Cell Cocktail (34 β E12 + p63) Improves the Detection of Prostate Basal Cells*. The American Journal of Surgical Pathology.
79. **Yang**, A., Kaghad, M., Gillet, E., et al. (1998). *p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities*. Pub Med.

80. **Osunkoya, AO.**, Hansel, DE., Sun, X., et al. (2009). *Aberrant diffuse expression of p63 in adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy and radical prostatectomy: report of 21 cases*. [aut. libro] David Dabbs. Diagnostic Immunohistochemistry. Philadelphia : Saunders - Elsevier.
81. **Pacheco, DI.** (2012) *Tesis doctoral: Determinación Inmunohistoquímica de las proteínas basales en el PIN de alto grado y en el carcinoma de próstata*. Madrid
82. **Trpkov, K.**, Bartczak, J., Yilmaz, A., et al. (2009). *Usefulness of Cytokeratin 5/6 and AMACR Applied as Double Sequential Immunostains for Diagnostic Assessment of Problematic Prostate Specimens*. American Journal of Clinical Pathology. Vol 132, pag: 211-220.
83. **Rajal, B.**, Shah, MD., Laksmi, P., et al. (2004). *Usefulness of Basal Cell Cocktail (34βE12 + p63) in the Diagnosis of Atypical Prostate Glandular Proliferations*. American Society for Clinical Pathology.
84. **Epstein, J.**, Egevad, L., Humphrey, P., et al. (2014). *Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate*. Am J Surg Pathol, 2014, Vol. 38. Pag: 6-19.
85. **Etchezarraga, C.**, Bilbao, FJ., López, JI. (2005). *Revista Española de Patología*. Bilbao. Vol 38
86. **Ventana Medical Systems, Inc.** Roche Diagnostics GmbH. *VENTANA Basal Cell Cocktail (34βE12+p63)* . [En línea] 2014. [Citado el: 2015 de Enero de 10.] <http://www.roche-diagnostics.ch/>
87. **Furusato, B.**, Tan, SH., Young, D., et al. (2010). *ERG oncoprotein expression in prostate cancer: clonal progression of ERG-positive tumor cells and potential for ERG-based stratification*. Nature.com / Prostate Cancer and Prostatic diseases.
88. **Tomlins, SA.**, Rhodes, DR., Yu, J., et al. (2008). *The role of SPINK 1 in ETS rearrangement - negative prostate cancer*. Cancer Cell. Vol. 13. Pag:519 - 518.
89. **Hyung, KP.** (2013). *El coreano Journal of Pathology*,. Seúl – Corea. Volumen 47.

90. **Perner, S.**, Mosquera, JM., et al. (2006). *TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer: An early molecular event associated with invasion*. Am J Surg Pathol. Vol. 31. Pag: 882-888
91. **Helgeson, BE.**, Tomlins, SA., Shah, N., et al. (2008). *Characterization of TMPRSS2: ETV5 and SLC45A3: ETV5 gene fusion in prostate cancer*. Cancer Res. Vol. 68. Pag: 73-80.
92. **Tomlins, SA.**, Rhodes, DR., Perner S., et al. (2005). *Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer*. Science. Vol. 310. Pag: 644-648.
93. **Esqueva, R.**, Perner, S., Lafargue, C., et al.(2010). *Prevalence of TMPRSS2-ERG and SLC45A3-ERG gene fusions in a large prostatectomy cohort*. Pub Med. Mod Pathol. 23(4): 539–546.
94. **Tomlins, S.**, Laxman, B., Varambally, S., et al. (2008). *Role of the TMPRSS2-ERG Gene Fusion in Prostate Cancer*. PUB MED. NCBI; 10 (2), 177-188.
95. **Barwick, BG.**, Abramovitz, M., Kodani, M., et al. (2010). *Prostate cancer genes associated with TMPRSS2–ERG gene fusion and prognostic of biochemical recurrence in multiple cohorts*. British Journal of Cancer. Vol **102**, Pag 570–576.
96. **Carver, B.**, Tran, J., Gopalan, A., et al. (2009). *Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate*. Pub Med. NatGenet. 41(5): 619–624.
97. **Van Leenders, G.**, Boormans, J., Vissers, C., et al. (2011). *Antibody EPR3864 is specific for ERG genomic fusions in prostate cancer: implications for pathological practice*. Rotterdam : Modern Pathology.
98. **Park, K.**, Tomlins, SA., Mudaliar, KM., et al. (2010). *Antibody based detection of ERG rearrangement-positive prostate cancer*. Neoplasia. Vol. 12. Pag: 590-598.
99. **Torres, M.**(2012). *Control y calidad en el laboratorio de patología anatómica*. Puerto Rico : Galenus - Revista para los médicos de Puerto Rico. Vol. 38.

100. **Committee**, in Quality of health care in America(1999). En línea:
<https://www.iom.edu/...Err-is-Human/To%20Err%20is%20Human%201999%20%20report%20brief.pdf>
101. **Llanos, V., Vera, D.**(2012). *Control de calidad en citología, colposcopia y estudios anatomopatológicos*. AMATGI. Vol. 3.
102. **Terry.** (1999). *control-en-administracion* En línea:
<http://www.scribd.com/doc/13617946/control-en-administracion>
www.scribd.com/doc/.../control-en-administracion
103. **Wied G., Keebler M., y cols.**(1995). *Compendium on Quality Assurance, Proficiency Testing and Workload Limitations in Clinical Cytology*. Chicago, Illinois. : Academia Internacional de Citología.
104. **Fernández, PS., Pértegas, DS.** (2010). *Pruebas diagnósticas sensibilidad y especificidad*. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Universitario de Coruña (España).
105. **CDC.** (2015). *Centros para el control y la prevención de enfermedades*.En línea:
<http://www.cdc.gov/spanish/cancer/prostate/statistics/race.htm>
106. **INEC.** (2010). *Instituto Nacional de Estadística y Censos*.En línea:
<http://www.ecuadorenchina.org.ec/ecuador/perfil-del-ecuador/demografia-y-sociedad-poblacion>
107. **Castiñeiras, J., Cozar, J., Fernández, A., et al.** (2010). *Referral criteria for benign prostatic hyperplasia in primary care*.Madrid – España.AEU.
108. **Nelson, WG., De Marzo, AM., Isaacs, WB.** (2003). *Prostate cancer*. N Engl J Med. Vol 349.
109. **Ali, ZT., Epstein, JI.** (2009). *False positive labeling of prostate cancer with high molecular weight cytoqueratin: p63 a more specific immunomarker for basal cells*. Diagnostic Immunohistochemistry. David,Dabbs. Philadelphia : Saunders. Elsevier.

110. **Shah, R., Zhou, M., LeBlanc, M., et al.**(2002). *Comparación de los marcadores de células basales-específico, 34βE12 y p63, en el diagnóstico de cáncer de próstata*. Lippincott Williams & Wilkins. Vol 26.
111. **OIE**, Asamblea Mundial de delegados. (2012). *Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas*. En línea: http://www.oie.int/esp/normes/fmanual/1.1.02_VALIDATION.pdf
112. **Duffau, B., Rojas, F., Guerrero, I., et al.** (2010). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición*. Instituto de Salud Pública. Santiago – Chile.

8. ANEXOS

ANEXO 1

FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.
EXPRESIÓN DE p63/CK34bE12 Y ERG EN LESIONES BENIGNAS Y
MALIGNAS DE PRÓSTATA

CÓDIGO:

1. EDAD:

2. DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO:

- | | |
|------------------------------------|----------------------|
| 2.1. HIPERPLASIA PROSTÁTICA | <input type="text"/> |
| 2.2. ADENOCARCINOMA | <input type="text"/> |
| 2.3. OTROS | <input type="text"/> |

3. INMUNOHISTOQUÍMICA DE p63+CK34bE12

- | | |
|---|----------------------|
| 3.1. EXPRESIÓN DE CÉLULAS BASALES | <input type="text"/> |
| 3.2. NO EXPRESIÓN DE CÉLULAS BASALES | <input type="text"/> |

4. INMUNOHISTOQUÍMICA DE ERG

- | | |
|---|----------------------|
| 4.1. EXPRESIÓN DE CÉLULAS TUMORALES | <input type="text"/> |
| 4.2. NO EXPRESIÓN DE CÉLULAS TUMORALES | <input type="text"/> |

FECHA:..... **RESPONSABLE:**

ANEXO 2. Procedimiento de aplicación de la técnica de Inmunohistoquímica.

	
Tejido en parafina	Microtomo de rotación
	
Baño de flotación	
	
Equipo de inmunotinción	



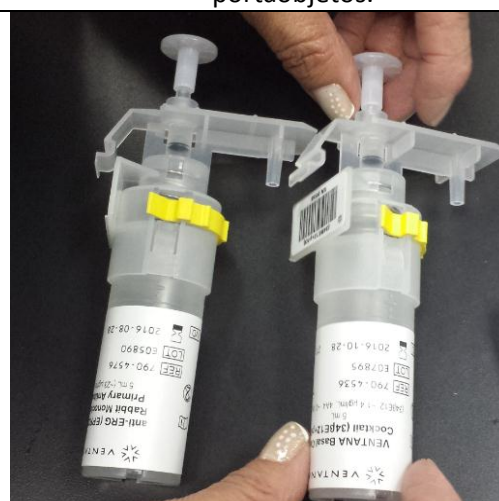
Desparafinización y rotulación.



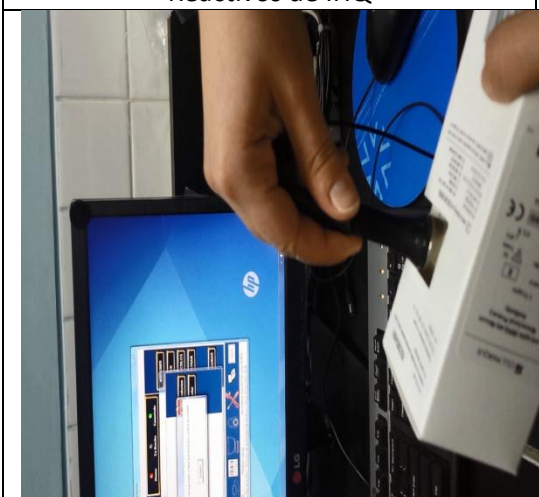
Rotulación y selección de placas en portaobjetos.



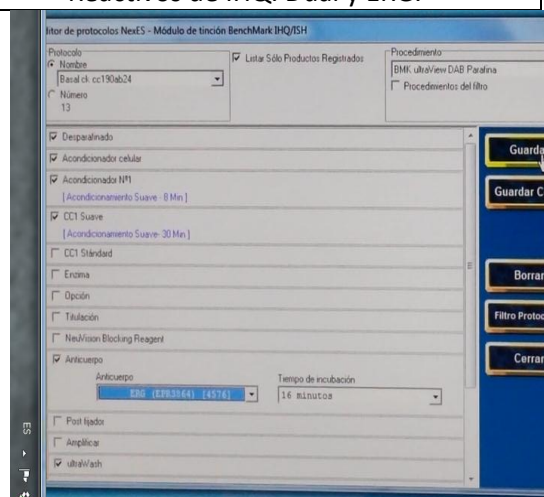
Reactivos de IHQ



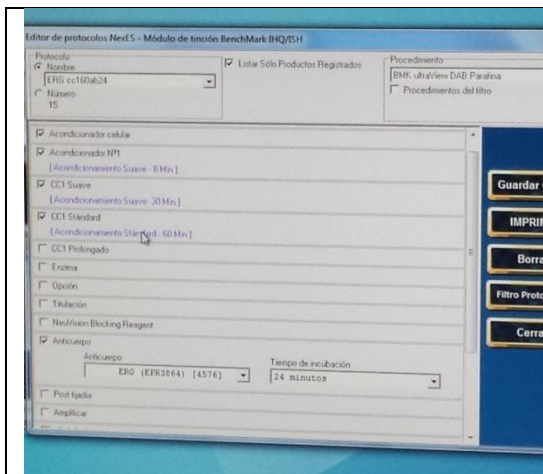
Reactivos de IHQ: Dual y ERG.



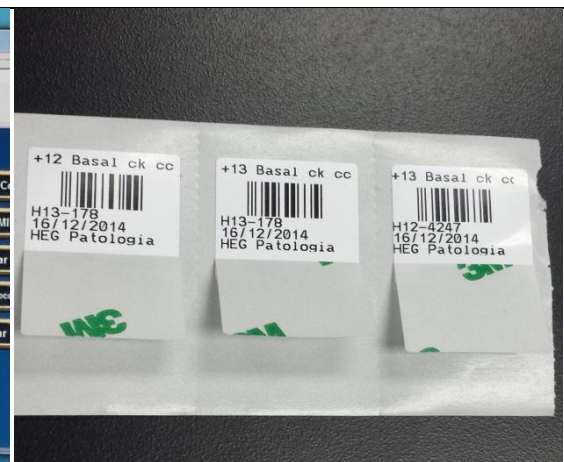
Reconocimiento electrónico de los reactivos



Regulación de Protocolo electrónico de IHQ.



Elección de protocolo de IHQ.



Etiquetas de información



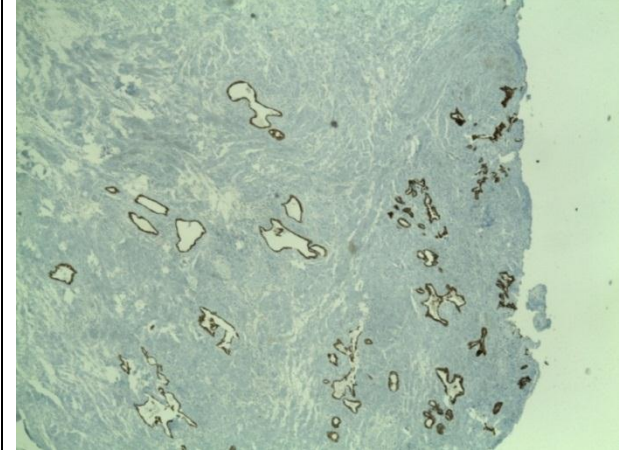
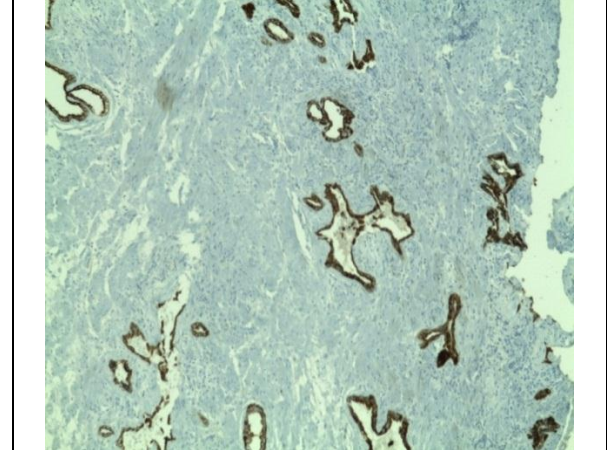
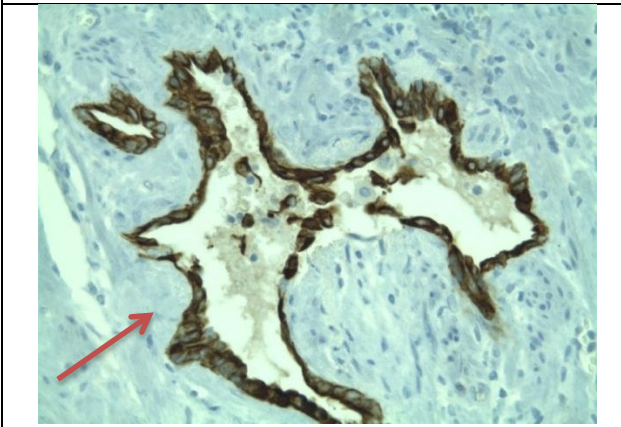
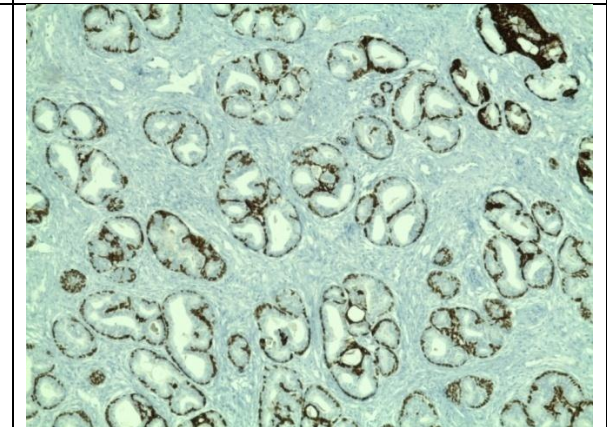
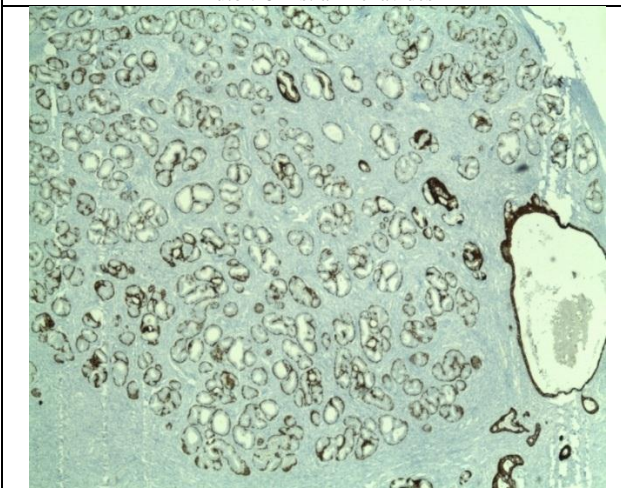
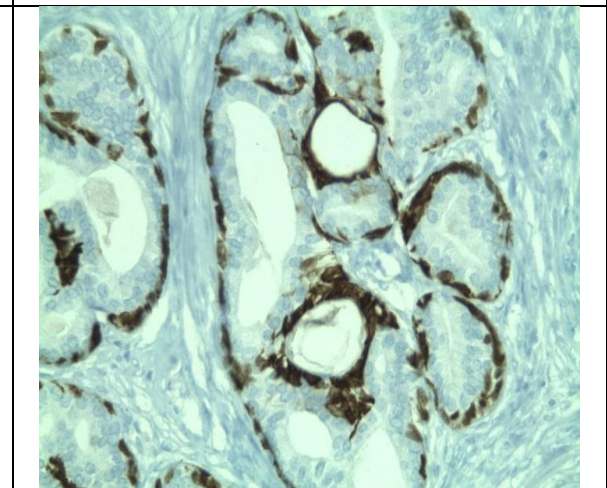
Colocación de placas en equipo de inmunotinción

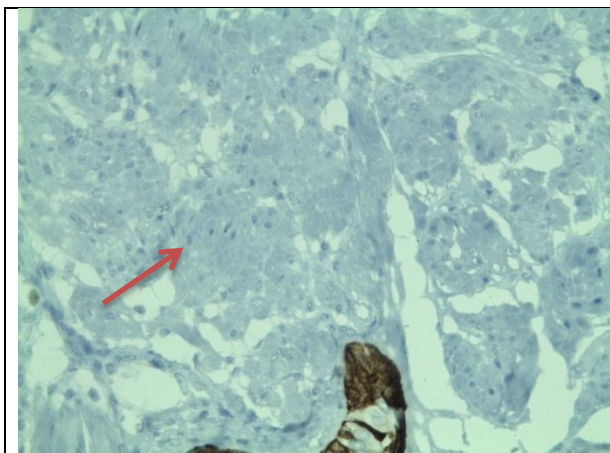
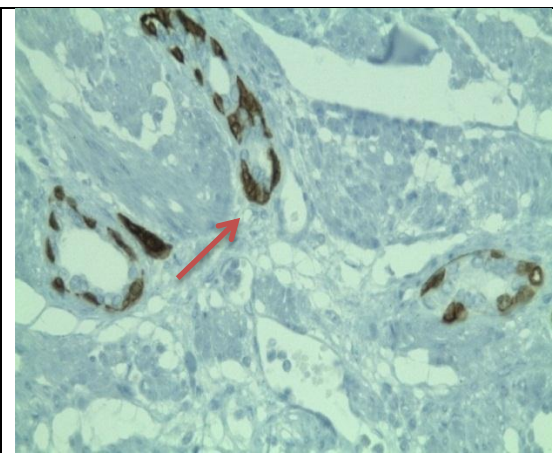
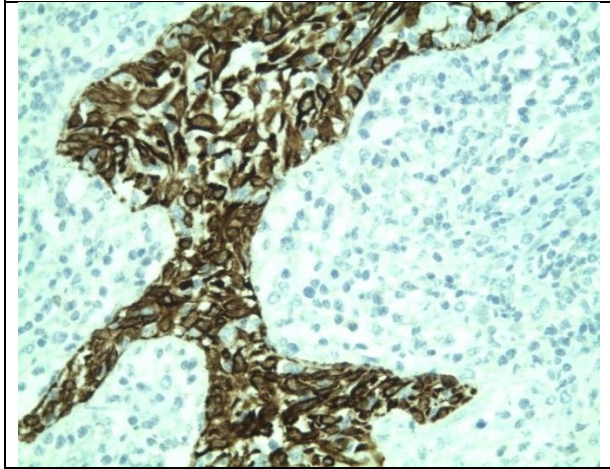
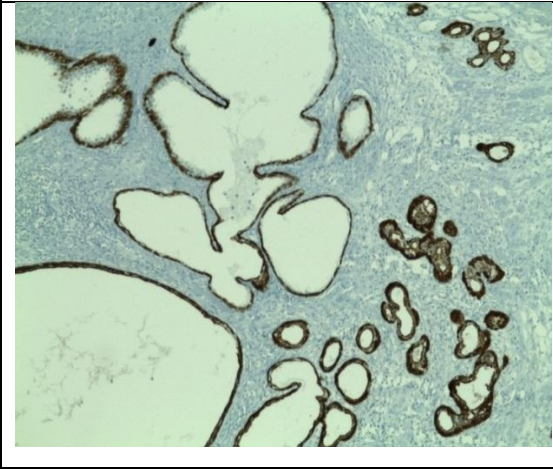
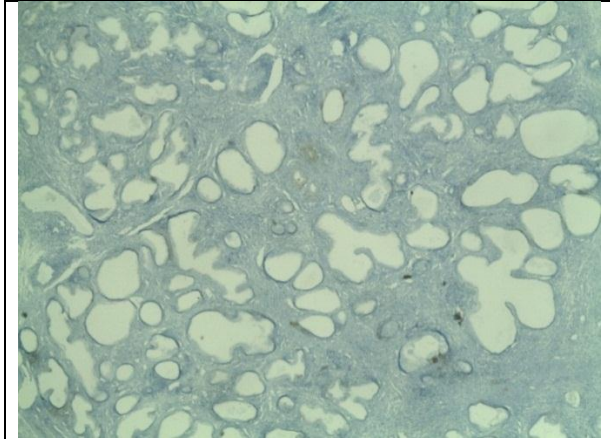
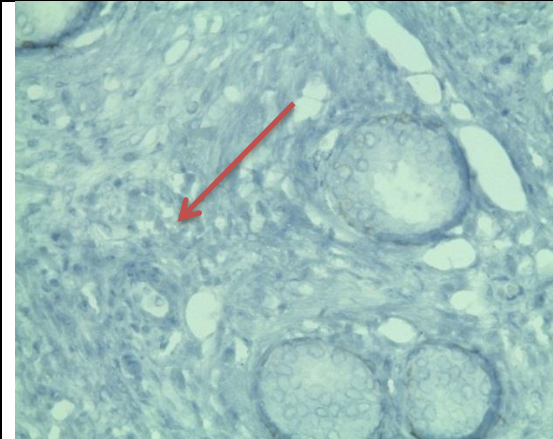


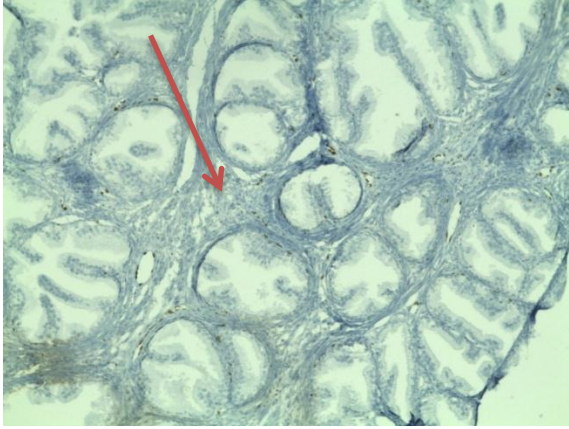
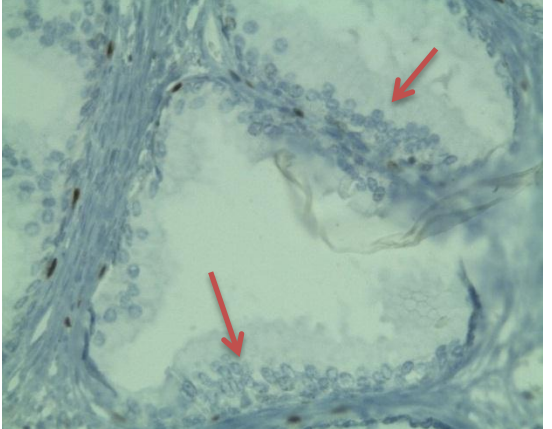
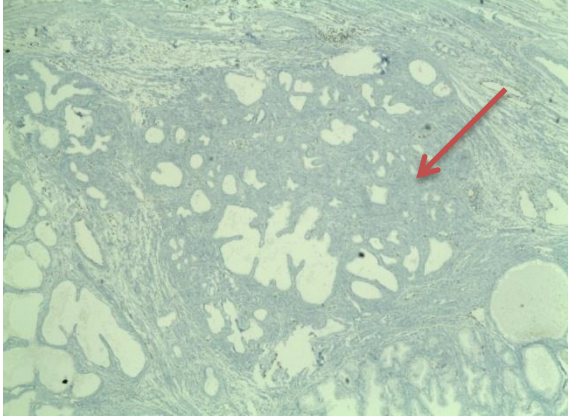
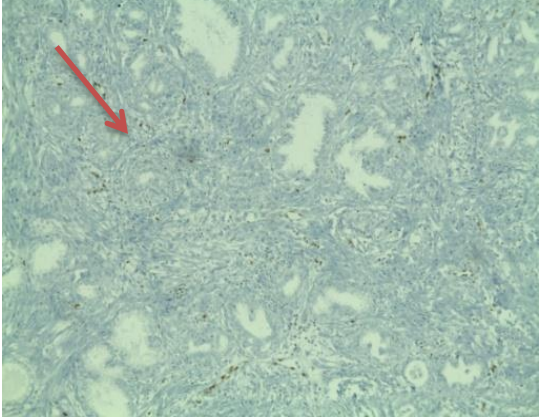
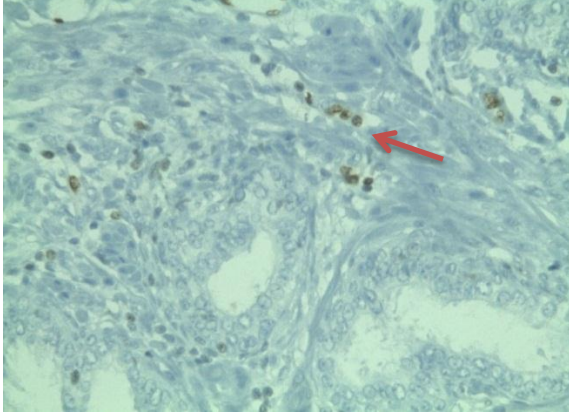
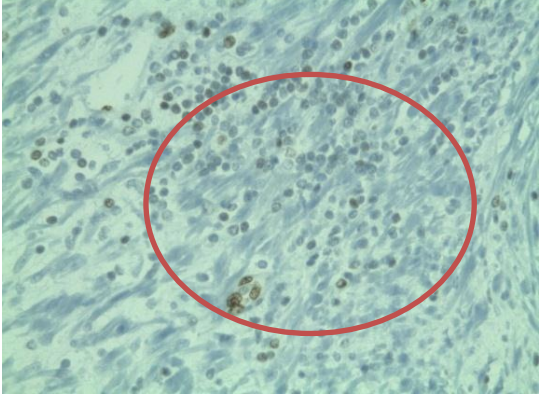
Colocación de reactivos de IHQ en equipo de inmunotinción

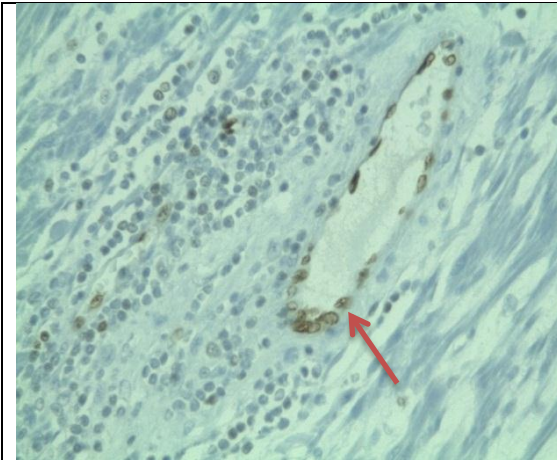
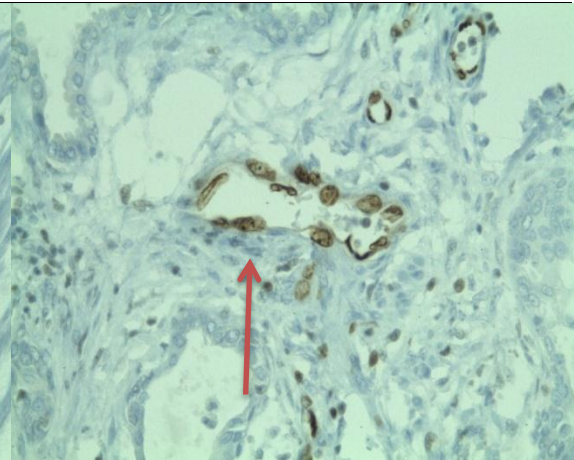
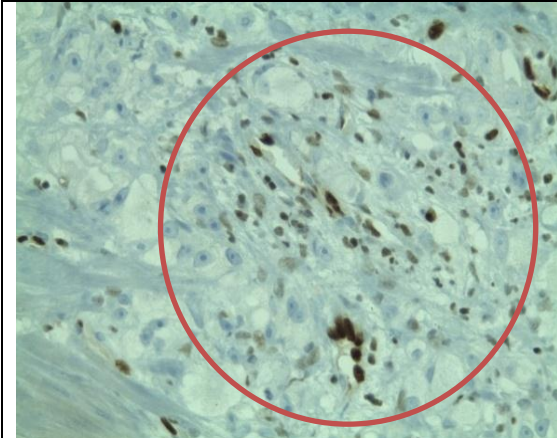
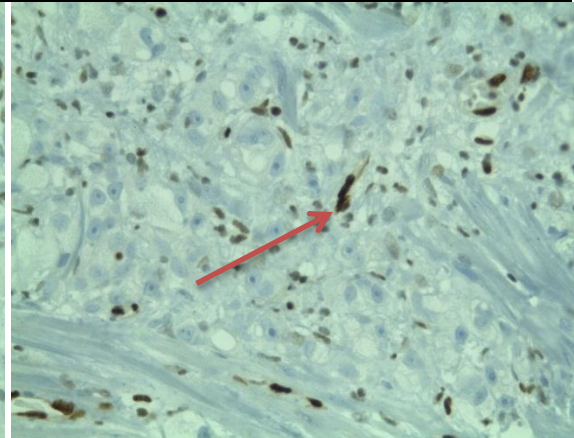

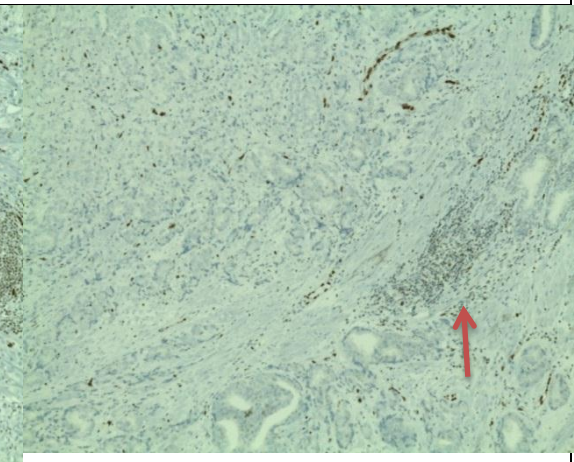
Fuente: Servicio de Anatomía Patológica Hospital Enrique Garcés
Autor: Christian Benavides

ANEXO 3. Fotos de inmunohistoquímica de p63/CK34bE12 y ERG en lesiones prostáticas.

	
<p>Foto 1. p63+CK34bE12. Hiperplasia benigna. 4x. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 2 p63+CK34bE12. Hiperplasia benigna. 10X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 3. p63+CK34bE12. Hiperplasia benigna. 40X. Expresión de células basales. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 4. p63+CK34bE12. Hiperplasia benigna. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 5. p63+CK34bE12. Hiperplasia adenomatosa de acinos pequeños. 4x. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 6. p63+CK34bE12. Hiperplasia adenomatosa de acinos pequeños. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>

	
<p>Foto 7. p63+CK34bE12. Expresión negativa por presencia de células tumorales. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 8. p63+CK34bE12. . Expresión negativa por presencia de células tumorales. Presencia de células basales remanentes. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 9. p63+CK34bE12. Hiperplasia benigna. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 10. p63+CK34bE12. Hiperplasia benigna. 10X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 11. p63+CK34bE12. Adenocarcinoma prostático. Expresividad negativa. 4x. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 12. p63+CK34bE12. Adenocarcinoma acinar. Ausencia de células basales. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>

	
<p>Foto 13. p63+CK34bE12. Adenocarcinoma acinar. 10X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 14. p63+CK34bE12. Adenocarcinoma acinar. Ausencia de células basales. 40X. Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 15. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión negativa. 4x Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 16. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión negativa. Buen pronóstico. 4x Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 17. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión negativa. 10X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides.</p>	<p>Foto 18. ERG. Adenocarcinoma prostático. Control interno positivo. 10X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>

	
<p>Foto 19. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión negativa. Control interno endotelial positivo. 40X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 20. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión negativa. Control interno endotelial positivo. 40X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 21. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión positiva. 40X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 22. ERG. Adenocarcinoma prostático. Presencia de células tumorales. 40X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>
	
<p>Foto 23. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión tumoral positiva. 10X Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>	<p>Foto 24. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión positiva. Control interno linfocítico. 10x Fuente: HEG Servicio de Patología. Autor: Christian Benavides</p>

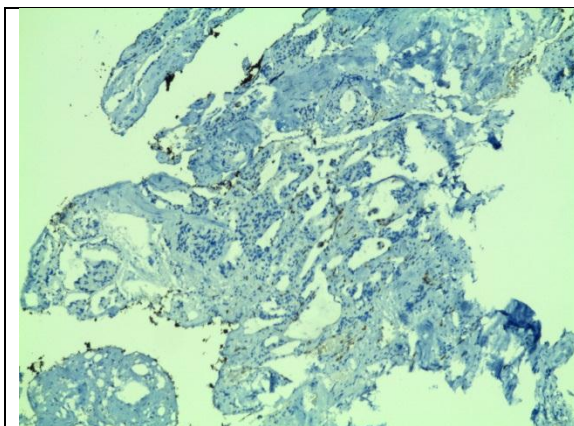


Foto 25. ERG. Adenocarcinoma prostático. 4X
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides

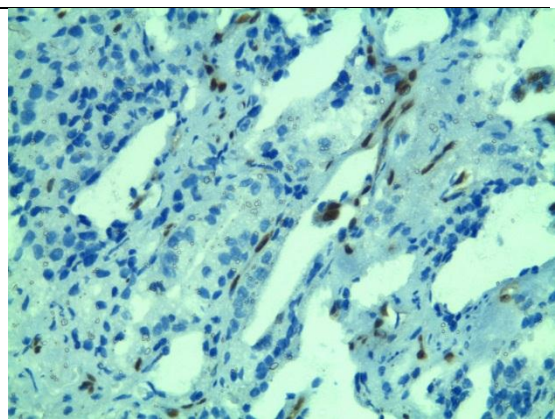


Foto 26. ERG. Adenocarcinoma prostático. 10x
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides

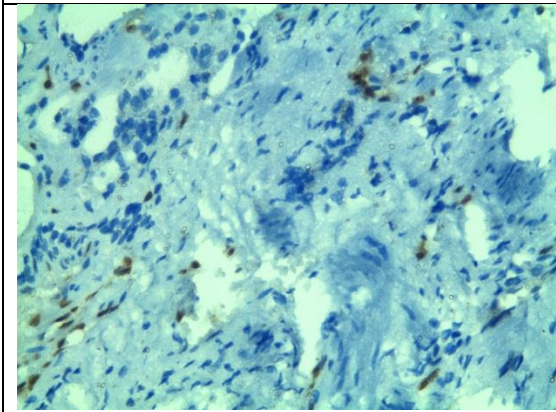


Foto 27. ERG. Adenocarcinoma prostático. 10X
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides

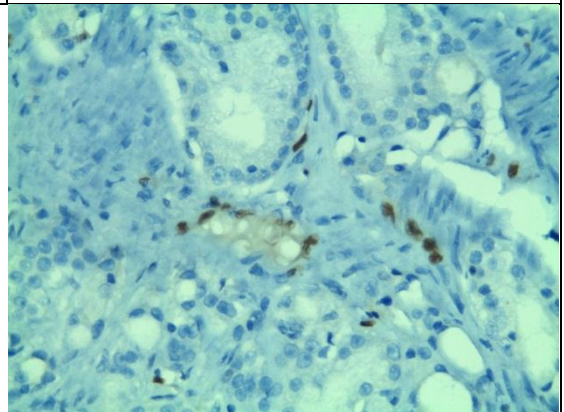


Foto 28. ERG. Adenocarcinoma prostático. 40x
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides

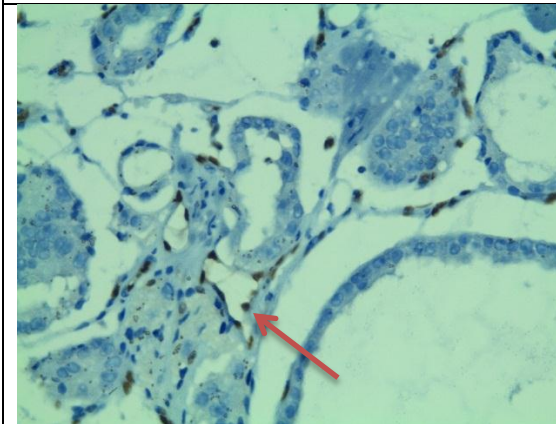


Foto 29. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión positiva. 40X
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides

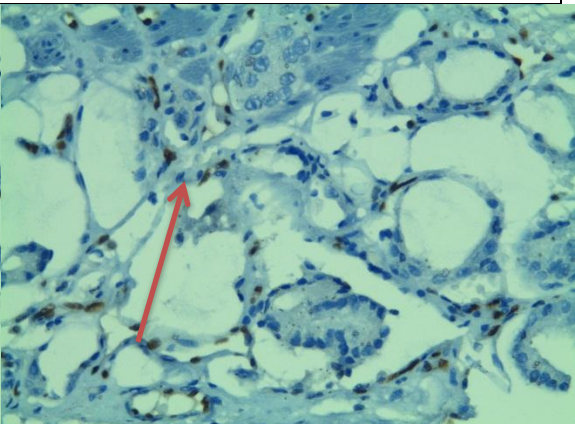


Foto 30. ERG. Adenocarcinoma prostático. Expresión positiva. 40x
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides

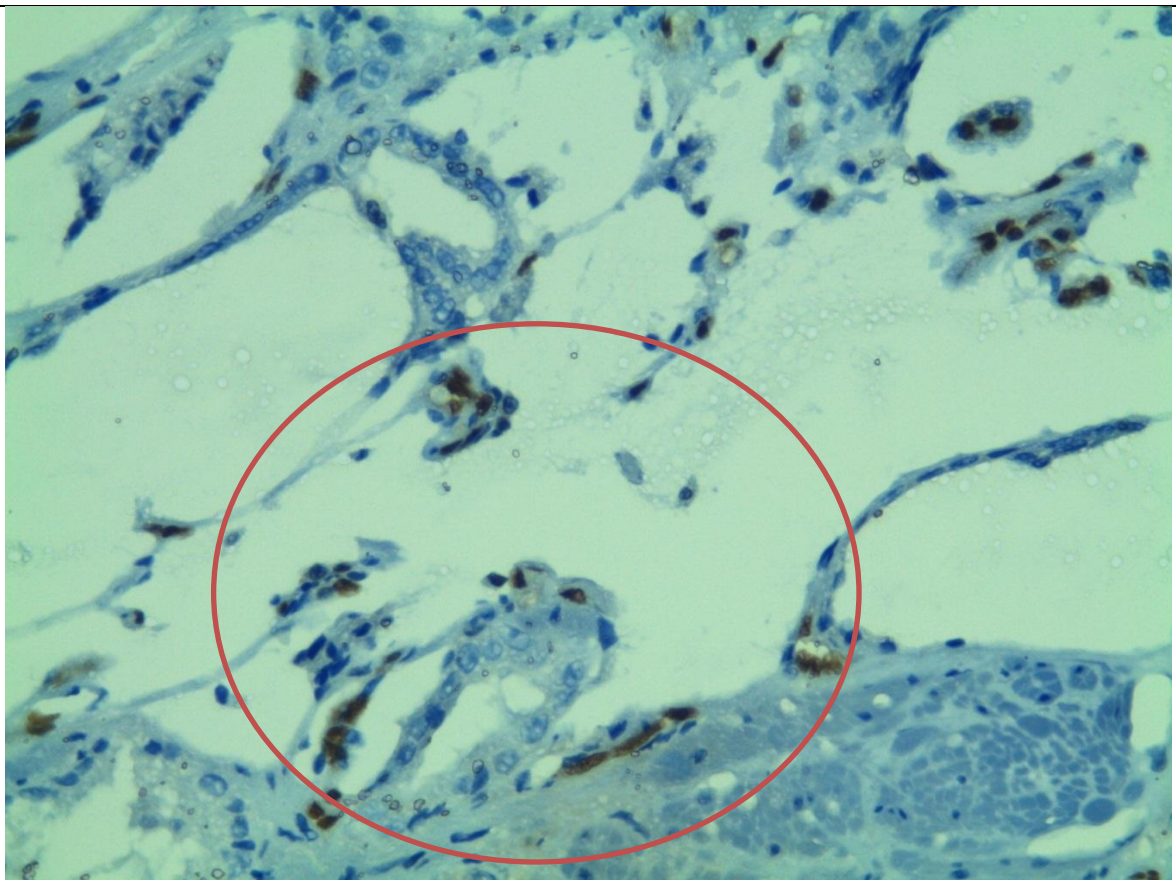


Foto 31. ERG. Adenocarcinoma prostático. Presencia de células tumorales. 40X
Fuente: HEG Servicio de Patología.
Autor: Christian Benavides